

LE BOTANISTE

DIRECTEUR : M. P.-A. DANGEARD

DOCTEUR ÈS SCIENCES, LAURÉAT DE L'INSTITUT

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA FACULTÉ DE POITIERS

QUATRIÈME SÉRIE

1894-1895

PRIX DE L'ABONNEMENT A LA SÉRIE DE SIX FASCICULES

16 francs pour la France. — **18** francs pour l'Etranger



A LA DIRECTION, 34, RUE DE LA CHAÎNE

POITIERS

ET CHEZ TOUS LES LIBRAIRES

LE BOTANISTE

LE BOTANISTE

DIRECTEUR : M. P.-A. DANGEARD

DOCTEUR ÈS SCIENCES, LAURÉAT DE L'INSTITUT

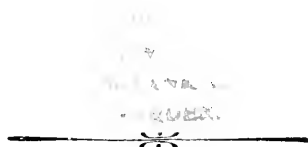
PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA FACULTÉ DE POITIERS

QUATRIÈME SÉRIE

1894-1895

PRIX DE L'ABONNEMENT A LA SÉRIE DE SIX FASCICULES

16 francs pour la France. — **18** francs pour l'Etranger



A LA DIRECTION, 34, RUE DE LA CHAÎNE

POITIERS

ET CHEZ TOUS LES LIBRAIRES

OBSERVATIONS

SUR LE

GROUPE DES BACTÉRIES VERTES

Par P.-A. DANGEARD

Le groupe des Bactéries vertes est encore bien peu connu : il comprend actuellement *Bacterium viride* V. Tiegh., *Bacillus virens* V. Tiegh., *Bacterium chlorinum* Engelmann, et enfin la section des *Eubacillus* Dang., dont le représentant le mieux connu est l'*Eubacillus multisporus*.

Les deux premières espèces ont été découvertes par Van Tieghem (1). Le *Bacterium viride* se trouvait dans l'eau de pluie qui remplissait la concavité d'un jeune Polypore ; il y formait un mince dépôt composé exclusivement de petits bâtonnets d'un vert pur, étranglés au milieu, se divisant fréquemment et se séparant aussitôt après chaque segmentation, d'ailleurs complètement immobiles ; transportés dans de l'eau ordinaire, ces bâtonnets prennent une couleur pâle et jaunâtre et produisent, à leur intérieur, un noyau blanc très réfringent, de forme sphérique qui est une spore ; cette spore est mise en liberté par résorption de la membrane.

(1) Van Tieghem. Observations sur des Bactériacées vertes, sur des Phycochromacées blanches et sur les affinités de ces deux familles (Bull. Société Botanique de France, 11 juin 1880.)

Le *Bacillus virens* se distingue du premier par des filaments très étroits, formés d'articles assez longs, ordinairement immobiles, parfois doués de mouvements : leur couleur est d'un vert pur, tirant sur le jaune. On rencontre ces organismes dans l'eau, au milieu des *Spirogyra*, et aussi dans les eaux stagnantes : les filaments, exposés à l'obscurité, produisent dans chacun des articles un noyau ovale, très réfringent, incolore, au niveau duquel l'article est quelquefois un peu renflé ; ces articles en même temps se décolorent ; les spores sont mises en liberté par résorption des filaments ; elles germent en un filament mince de bonne heure cloisonné, d'abord incolore, mais verdissant bientôt à la lumière.

La nature bactérienne de ces deux espèces est généralement admise (1) ; cependant elle a été fortement contestée par E. de Wildeman (2), qui est tenté de réunir les deux espèces en une seule et de les rattacher au *Stichococcus bacillaris* Naeg. Déjà Lagerheim avait signalé une forme de *Stichococcus* var. *fungicola*, avec le même habitat que *Bacterium viride* (3).

J'ai rencontré, au commencement du printemps de cette année, en très grande abondance sur des chapeaux de Polypores, au bord d'un ruisseau, une algue que je n'ai pas eu de peine à rapprocher du *Bacterium viride* : le dépôt vert qui recouvrait toute la surface du Polypore était exclusivement composé d'articles dissociés, les uns allongés en bâtonnets, les autres plus courts, quelques-uns presque arrondis ; en général, la cellule, avant la division, est deux fois plus longue que large : cette divi-

(1) Macé. *Traité pratique de Bactériologie*, 1892, p. 545.

(2) E. de Wildeman. Sur l'*Ulothrix flaccida* Kutz. et le *Stichococcus bacillaris* Naeg. (*Comptes rendus de la Société royale de botanique de Belgique*, 7 avril 1888).

(3) Lagerheim. Ueber eine durch die Einwirkung von Pilzhyphen entstandene Varietät von *Stichococcus bacillaris* (*Flora*, 1888, n° 4).

sion se produit activement et les deux moitiés se séparent presque aussitôt. La coloration est due certainement à de la chlorophylle ordinaire ; mais je n'ai pu distinguer ni chromatophore, ni pyrénoloïde : le protoplasma est homogène.

Je n'ai pas l'intention de me prononcer ici sur la présence ou l'absence d'un noyau chez toutes les Bactéries et les Cyanophycées (1) ; mais il semble que, s'il existe, ses caractères sont différents de ceux des noyaux des Chlorophycées. Il m'a donc paru intéressant d'essayer de résoudre la question d'affinité de l'organisme en question par la recherche du noyau cellulaire. Au moyen des doubles colorations, je suis arrivé sans trop de difficultés à mettre en évidence la présence d'un noyau dans chaque article ; il en occupe le centre, lorsque la cellule n'est pas en division : malgré sa petitesse extrême, puisque souvent son diamètre ne dépasse pas la moitié de celui du bâtonnet. Il possède une membrane nucléaire à double contour et un nucléole (fig. 1). Nous sommes donc conduit à regarder cette algue non comme une Bactérie, mais comme une véritable chlorophycée ; et si cette forme est bien identique — ce qui paraît probable — avec le *Bacterium viride*, c'est sans doute ce noyau nucléolé qui a été pris pour une spore endogène ; d'un autre côté, cette algue dissociée des Polypores est sans aucun doute le *Stichococcus bacillaris*, il ne reste donc plus que la question d'autonomie du genre lui même. Plusieurs algologues sont disposés à faire rentrer les *Stichococcus* dans le cycle du développement des *Ulothrix* : cette opinion est assez vraisemblable.



FIG. 1. — *Stichococcus bacillaris* Naeg.

(1) Consulter : E. Palla. Beitrag zur Kenntniss des Baues des Cyano-phyceen-Protoplasts (*Pringsheim's Jahrb. fur Wiss. Botanik*, Bd. XXV, Heft 4.

RECHERCHES

SUR LA

STRUCTURE DES MUCORINÉES

Par MM. P.-A. DANGEARD et Maurice LÉGER

1^{re} NOTE

« Le développement des Mucorinées est bien connu, grâce aux travaux de Brefeld, Van Tieghem, Bainier, etc. ; leur structure intime l'est beaucoup moins. On sait seulement que le thalle du *Mucor racemosus* renferme de nombreux petits noyaux ; il en existe plusieurs dans les chlamydospores et les spores bourgeonnantes : les spores n'en posséderaient qu'un seul ou deux par exception : celles du *Chetocladium Jonesii* en ont cependant de quatre à sept (1). Vuillemin a vu les noyaux du *Pilobolus ædipus*, dont les spores en possèdent souvent deux et quelquefois trois ou quatre (2).

« Dans cette note, nous établirons d'abord la structure de ces noyaux ; nous verrons ensuite quelle est leur distribution.

« Les noyaux sont vésiculaires : ils ont une membrane

(1) Schmitz. Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten (*Verhandlungen des naturhistorischen Vereins der preussischen Rheinlande und Westfalens*, 1887).

(2) Vuillemin. Études biologiques sur les Champignons (*Bulletin de la Société des Sciences de Nancy*, 1886).

nucléaire séparée d'un nucléole central par un cytoplasme incolore ou peu chargé de chromatine ; le nucléole est très dense, et c'est lui qui se teint fortement par les réactifs colorants (*Sporodinia grandis*, *Mucor Mucedo*, *M. racemosus*, etc.) ; ces noyaux ne diffèrent pas sensiblement de ceux des Saprologniées, Ustilaginées, Urédinées (1). Leur structure est susceptible de varier dans certaines limites.

« Ainsi, au moyen des doubles colorations, on trouve dans la zygospore jeune un assez grand nombre de noyaux devenus très gros ; leur nucléole se colore en rouge, alors que le protoplasma reste violet. L'intervalle entre la membrane et le nucléole est incolore ; d'autres fois, la modification se produit en sens inverse, le nucléole diminue jusqu'à devenir imperceptible ; le noyau est devenu une simple vacuole limitée encore un certain temps par la membrane nucléaire ; il est en voie de destruction. Ajoutons que les noyaux s'allongent fréquemment suivant le sens de la croissance du thalle. Dans les *Pilobolus*, le nucléole est moins apparent, et le cytoplasma montre des granulations chromatiques.

« Les noyaux sont situés dans un protoplasma disposé en réseau à mailles de largeur variable : dans un filament en voie de croissance (*Sporodinia*) ces noyaux sont groupés au nombre de plus d'une centaine, séparés de l'extrémité par une couche de protoplasma homogène brillant, dépourvu de noyaux ; plus bas, les mailles s'élargissent et le nombre des noyaux diminue (fig. 1).



« Les sporanges se forment à l'extrémité renflée des filaments : le protoplasma s'accumule dans le renflement ;

(1) P.-A. Dangeard. Recherches histologiques sur les Champignons, (*Le Botaniste*, 2^e série, 2^e et 3^e fascicules). La reproduction sexuelle des Champignons (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule, janvier 1893).

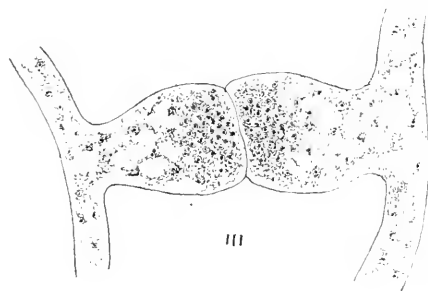
il constitue sous la paroi une couche épaisse qui limite une grande vacuole centrale. Cette couche renferme une quantité considérable de noyaux ; elle se divise par des lignes claires en portions de protoplasma à contour hexagonal : cet aspect rappelle tout à fait celui qui précède la formation des spores chez les Myxomycètes, ou celle des sporanges dans les *Synchytrium*. Chaque portion ainsi



délimitée est destinée à former une spore ; elle renferme un nombre variable de noyaux : de trois à sept (*Mucor*) ; de vingt à cinquante (*Sporodinia*) (fig. 2). Après la formation des spores et leur mise en liberté, on retrouve un grand nombre de noyaux dans la colu-

melle et le filament qui supporte le sporange (*Mucor*, *Sporodinia*, *Pilobolus*) ; ils sont destinés à disparaître.

« Dans le *Sporodinia*, les zygosporos comme les sporanges sont des extrémités renflées de filaments dichotomes : beaucoup de ces filaments sont stériles, s'allongent en poils ; c'est au milieu de ce feutrage que se trouvent les filaments sexuels en ampoule. Chaque ampoule, au début, est remplie par un protoplasma à larges mailles,



sauf à l'extrémité où s'effectue le contact ; on trouve à cet endroit une quarantaine de noyaux groupés ; en arrière, il en existe d'autres disséminés çà et là dans les mailles du réseau (fig. 3). Un peu plus tard, le protoplasma devient de

plus en plus dense, et le nombre des noyaux augmente considérablement ; cette augmentation est due, au moins pour la plus grande partie, à l'arrivée de noyaux venant du thalle et non à une division des premiers ;

c'est alors qu'une cloison se forme dans chaque ampoule, à quelque distance de l'extrémité, délimitant du reste du thalle les deux éléments sexuels en présence. De nombreux noyaux se voient encore longtemps dans les filaments copulateurs, en dehors des gamètes ; ils correspondent à ceux de la columelle et, comme eux, ils sont destinés à disparaître.

« En résumé, dans cette Note, nous avons établi la structure des noyaux ainsi que les variations qu'elle présente, la distribution de ces éléments dans le thalle et leur disposition pendant la formation du sporange et des spores ; nous avons constaté également que les deux gamètes en présence renferment de nombreux noyaux venant du thalle : nous espérons pouvoir indiquer bientôt ce qu'ils deviennent, en étudiant la reproduction sexuelle dans cette même famille. »

(19 février 1894.)

LA REPRODUCTION SEXUELLE DES MUCORINÉES

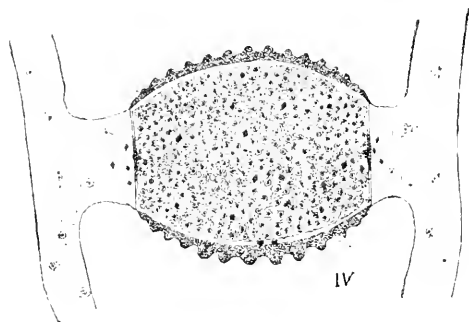
2^e NOTE

« Dans cette étude, nous choisirons comme type le *Sporodinia grandis* dont nous avons obtenu un grand nombre de zygosporos à tous les états de développement : les plus jeunes ont été traitées directement par les réactifs colorants ; d'autres, après écrasement dans le collodion ; enfin, le plus souvent, nous avons été obligés de débiter ces zygosporos en sections minces, avant de le soumettre à l'action des réactifs.

« La zygospore jeune a la forme d'un tonnelet ; elle montre bientôt à sa surface, en cutinisant sa membrane, le début des ornements caractéristiques mamelonnés. A ce moment, le protoplasma est très dense et homogène ; il renferme une grande quantité de noyaux qui se montrent

comme de petites vacuoles ; après coloration, on y reconnaît la présence d'un nucléole et d'une membrane nucléaire ; ils sont rapprochés les uns des autres au nombre de plusieurs centaines (fig. 4).

« La membrane médiane de la zygospore, qui jusque-là

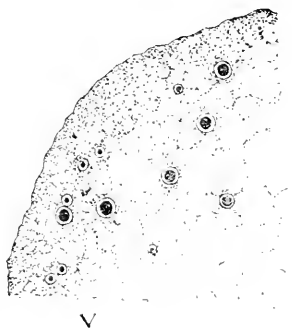


sépare les deux gamètes, se résorbe, laissant les deux protoplasmas sexuels communiquer librement ; les parois latérales de la zygospore présentent une tache centrale brune et une quantité de petites

ponctuations de diverses grandeurs qui lui donnent l'aspect d'un crible ; elles favorisent les échanges avec les ampoules latérales qui renferment encore longtemps du protoplasma et des noyaux.

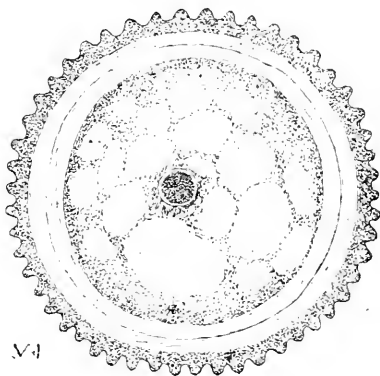
« Le protoplasma de la zygospore organise sa membrane propre qui se moule sur les cavités de l'enveloppe externe cutinisée. Nous avons obtenu, alors que cette membrane commençait à se former, de magnifiques préparations au moyen d'un procédé particulier de double coloration ; le protoplasma possède une structure réticulée, à mailles excessivement fines à la surface, où se dépose la cellulose, à mailles un peu plus larges vers l'intérieur. Sous l'influence de la double coloration, on voit des noyaux de deux sortes : les uns qui ont deux ou trois fois le diamètre des noyaux ordinaires, ont un nucléole arrondi, dense, coloré en rouge ; la membrane nucléaire est à double contour et excessivement nette ; l'intervalle compris entre le nucléole et la membrane reste incolore ; le protoplasma garde une coloration bleue ; les autres noyaux plus petits ont un nucléole réduit (fig. 5).

« A un stade plus avancé, alors que l'huile commence à s'accumuler au centre de la zygospore, le protoplasma qui s'étend entre la vacuole centrale oléifère et la paroi renferme encore de nombreux noyaux; il nous a été impossible d'y retrouver les différences de grosseur signalées plus haut ; ils sont encore nucléolés, mais bientôt ce nucléole se réduit à un point central, et les noyaux ne sont plus que de petites vacuoles remplies d'eau qui finalement disparaissent; du moins, il nous a été impossible de les retrouver par les méthodes ordinaires.



« En effet, dans la zygospore mûre, le globule huileux est très gros et le protoplasma est réduit à une couche pariétale dense en certains points, vacuolaire dans le reste ; si cette couche ne montre pas de noyaux, elle renferme des formations, difficiles à interpréter, qui se présentent sous les aspects suivants :

« A. La zygospore renferme un très gros corpuscule elliptique, vacuolaire, coloré en rouge ; dans le protoplasma coloré en violet existent un certain nombre de vésicules à enveloppe rougeâtre, bien distinctes des vacuoles ordinaires ; quelques-unes sont en contact avec le corpuscule central.

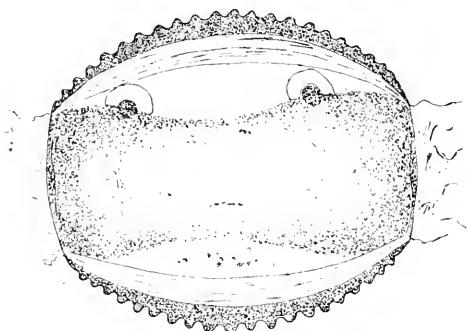


« B. Dans la zygospore, on trouve un corpuscule sphérique, dense, coloré en rouge foncé ; il est entouré d'une

zone membraneuse, mince, incolore. A ce stade, le protoplasma conserve une teinte violacée (fig. 6).

« C. La zygospore montre deux gros corpuscules sphériques, ressemblant, à s'y méprendre, à des noyaux nucléolés, tels qu'on les rencontre dans les plantes supérieures (fig. 7).

« Ayant rencontré un autre aspect dans lequel le protoplasma du corpuscule était entouré d'une membrane épaisse, incolore, striée concentriquement, nous avons étudié des zygospores d'un *Mucor* sp.; nous avons reconnu que ce dernier aspect était dû à une section de



VII

prolongements internes de la membrane de la zygospore; leur nombre est de quatre ou cinq; mais cette explication ne peut s'appliquer aux stades A, B, C qui peut-être sont en rapport avec la fécondation.

« On sait quelles difficultés présente l'étude des oospores formées par le concours de gamètes plurinucléés (1). L'attention des observateurs devra se porter maintenant de préférence sur les phénomènes qui précèdent la germination des œufs, afin de rechercher, ce qui paraît probable, si les noyaux de la plante nouvelle proviennent d'un seul noyau sexuel ($\sigma + \varphi$), tous les autres ayant servi à la constitution de la membrane et à la formation des réserves.

(1) Consulter: P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Champignons (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule, janvier 1894).

« Ajoutons que les jeunes zygosporées renferment, contrairement à l'opinion admise jusqu'ici (1), des cristaux de mucorine, disséminés dans le protoplasma. »

(5 mars 1894).

(1) Van Tieghem. *Traité de Botanique*, 2^e édition, p. 522.

LA REPRODUCTION SEXUELLE

DE

L'ENTYLOMA GLAUCII (*Dang.*)

Par P.-A. DANGEARD.

Dans l'étude histologique consacrée à la famille des Ustilaginées, nous avons établi le mode de reproduction sexuelle sur de nombreux exemples ; nous reprenons aujourd'hui cette question importante et nous nous attacherons à bien indiquer tous les détails du phénomène en choisissant une seule espèce.

Quand une idée nouvelle se fait jour dans la science, il n'est pas toujours facile de la faire adopter : il est souvent nécessaire d'y revenir fréquemment, de la présenter sous toutes ses faces de l'étendre, de la développer : l'idée y gagne en précision, en clarté et parfois en exactitude ; les preuves s'accumulent : elle finit par devenir indiscutée. C'est ce résultat que nous cherchons à atteindre.

Il est bien certain que le genre *Entyloma* fournit un des exemples les plus favorables à l'étude de la reproduction sexuelle des Ustilaginées ; les oospores y sont isolées ou groupées en petit nombre, au lieu d'être réunies en masses compactes comme chez les *Ustilago* : il est donc beaucoup plus facile d'y suivre les débuts de leur formation et leurs relations avec les filaments mycéliens.

Le genre *Entyloma* comprend un grand nombre d'es-

pèces : celle qui va nous occuper est parasite des *Glaucium*, elle forme sur les feuilles des taches arrondies qui se voient sur les deux faces du limbe.

La grande épaisseur de la feuille est favorable aux recherches : sous un épiderme ordinaire, il existe à la face interne deux assises de parenchyme en palissade qui se continuent jusqu'à l'épiderme inférieur par un mésophylle lacuneux bien développé (fig. 1).

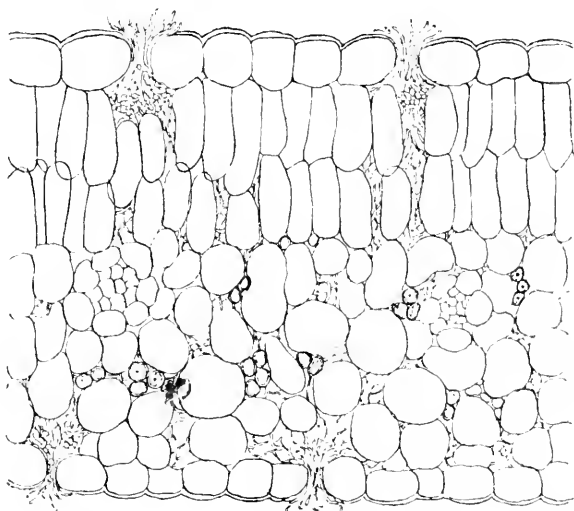


FIG. 1. — Section d'une feuille de *Glaucium* attaquée par l'*Entyloma*.

L'*Entyloma Glauchi* vit dans les espaces intercellulaires : aussi est-il plus spécialement localisé dans le mésophylle lacuneux ; néanmoins, les stromas mycéliens qui, au travers des fentes stomatiques, produisent les conidies, se rencontrent sur les deux faces du limbe.

Nous avons déjà eu l'occasion d'étudier histologiquement un grand nombre de champignons appartenant aux groupes les plus divers ; il n'en est peut-être pas un seul qui offre autant de résistance aux réactifs ordinaires que les Ustilaginées : c'est ce qui rend difficile cette étude des oospores.

Elles se rencontrent en très grande abondance dans toute l'étendue des taches : les plus âgées occupent le centre de la tache, les plus jeunes sont situées vers le bord, sur une seule section ; on peut donc avoir très souvent tous les états, tous les stades du développement d'une oospore.

Les sections de feuille à examiner doivent être colorées de préférence à l'hématoxyline de Grenacher additionnée d'une goutte d'acide phénique ; il est nécessaire quelquefois de les écraser dans du collodion, afin d'amener des solutions de continuité dans les membranes des oospores : c'est souvent le seul moyen de voir avec netteté la structure histologique de l'oospore mûre.

Les filaments mycéliens qui parcourent les espaces intercellulaires ne varient que très peu en diamètre, leurs cloisons sont inégalement espacées ; au centre de la tache, les articles sont dépourvus de noyaux et de protoplasma ; à la périphérie, ils en possèdent et chaque cellule montre plusieurs noyaux nucléolés très petits : le protoplasma est réticulé çà et là, peu chargé en granulations : il renferme beaucoup d'eau.

Les oospores débutent par de simples vésicules qui se produisent à l'extrémité ou sur le trajet des filaments mycéliens (fig. 2). On observe plusieurs dispositions : tantôt la vésicule est complètement terminale (II) ; tantôt elle est intercalaire ; tantôt enfin c'est un rameau renflé court qui se produit sur le filament principal (III, VI) ; certains aspects (I, V) donnent l'idée d'une copulation s'étant effectuée entre filaments différents ; mais il faut, je pense, être ici très réservé, car d'autres aspects excluent toute idée de copulation, particulièrement en ce qui concerne les vésicules terminales.

Il nous paraît bien certain d'ailleurs que dans ces articles plurinucléés l'existence de cloisons n'indique nullement la division réelle de l'organisme : chaque noyau avec le pro-

toplasma qui l'entoure est une unité ou peut le devenir. Lorsque dans ces vésicules nous voyons un second noyau venir se joindre au premier, nous pouvons dire que cette vésicule contient deux gamètes : c'est une oospore dans laquelle la fusion de ces gamètes ne tardera pas à devenir complète.

Dans les jeunes oospores, les deux noyaux sont situés à quelque distance l'un de l'autre dans un protoplasma

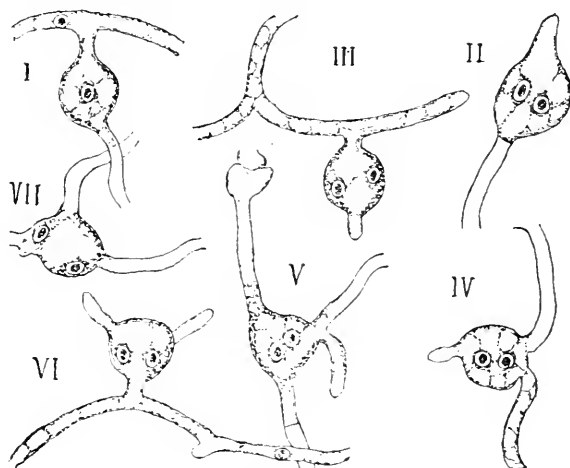


FIG. 2. — *Entyloma Glauchii*, Dang.
I-VII. Divers états de développement des oospores.

vacuolaire, ils sont fréquemment au contact même de la membrane : une communication directe existe encore entre la vésicule et les filaments mycéliens ; les deux noyaux se portent bientôt vers le centre ; des cloisons délimitent l'oospore. Les deux noyaux sont suspendus au milieu de l'oogone par des trabécules de protoplasma qui relient la couche entourant les noyaux à celle qui recouvre la face interne de la membrane de l'oospore.

La structure de ces noyaux ne se laisse apercevoir que très difficilement ; ils sont sphériques, entourés par une membrane à double contour et possèdent au centre un

nucléole: c'est ce nucléole qui, se colorant fortement par les réactifs, indique seul la présence des noyaux lorsque les conditions de l'observation ne sont pas favorables.

En étudiant avec soin un très grand nombre de préparations, on arrive à observer tous les stades de la fusion; l'attention devra se porter sur les oospores dans lesquelles la membrane commence à se colorer dans sa partie externe en même temps qu'elle subit un épaissement sensible.

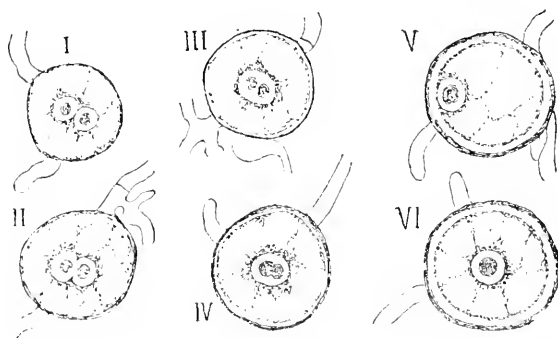


FIG. 3. — *Entyloma Glaucii*, Dang. — Oospores pendant la fusion des noyaux.

Les deux noyaux arrivent au contact sur un point: le contact s'établit sur une plus grande surface; à cet endroit, les deux membranes nucléaires disparaissent; les deux nucléoles restent encore distincts; la pénétration des hyaloplasmes nucléaires devient plus complète; le contour, d'elliptique qu'il était, tend à redevenir sphérique; c'est alors que les deux nucléoles s'unissent en un seul (fig. 3).

Le noyau unique de l'oospore, devenu assez gros, reste au centre, il est relativement assez facile de l'observer; pendant la fusion et après, l'oospore augmente de volume, sa membrane devient épaisse et se laisse décomposer en une exospore lisse, cutinisée, striée concentriquement, et une endospore incolore; les trabécules protoplasmiques qui soutiennent le noyau forment de grandes vacuoles

dans lesquelles s'accumulent les substances oléagineuses de réserve.

Les oospores sont groupées en nombre variable dans les espaces intercellulaires; elles sont arrondies, ovales, elliptiques ou irrégulières par compression; à leur surface, on voit un ou plusieurs prolongements mycéliens arrêtés dans leur développement.

On sait, d'après ce que nous avons vu dans les autres genres d'Ustilaginées, qu'à la germination le noyau sexuel passe dans le promycète, qu'il s'y divise en huit généralement et que chacun de ces nouveaux noyaux passe dans une *sporidie* point de départ d'une nouvelle plante.

Nous verrons, dans le mémoire qui va suivre, que les caractères de la reproduction sexuelle sont presque identiques chez les Ascomycètes: ce qui diffère, c'est le mode de germination des oospores et leur structure. Mais nous pourrons facilement établir les transitions et réussir, nous l'espérons, à convaincre tout le monde.

RECHERCHES

SUR LA

STRUCTURE DES LICHENS

Par P.-A. DANGEARD.

Nous reproduisons ici, pour nos lecteurs, une note publiée récemment dans les comptes rendus de l'Académie des sciences ; le mémoire complet, avec planches, paraîtra plus tard.

« Un Lichen est le résultat de l'association intime d'un champignon et d'une algue » ; telle est l'idée avancée par Schwendener (1) il y a plus de trente ans et connue sous le nom de *théorie schwendénérienne*. Malgré les preuves fournies en faveur de cette idée par les beaux travaux de Hamintzin et Baranetzky, de Stahl, Bornet, Max Rees, Bonnier, etc., peut-on dire qu'actuellement la majorité des Lichénographes s'est rangée à cet avis ? Assurément non ; il suffit, pour s'en convaincre, de parcourir les comptes rendus des diverses sociétés savantes françaises et étrangères.

La présente note apporte à la théorie Schwendénérienne l'appui des progrès récents de la technique histologique ; l'idée directrice est celle-ci :

A. Prendre dans un Lichen les algues qui y vivent ;

(1) Schwendener. Untersuchungen über den Flechtenthallus (*Nägeli's Beiträge zur wiss. Bot.* II, 1860 ; III, 1863 ; IV, 1869).

étudier leur structure intime et la comparer à celle des algues vivant en liberté.

B. D'un autre côté, établir l'identité de structure de la partie mycélienne du Lichen avec celle des Champignons ordinaires.

Cette méthode nous a fourni de nombreux résultats dont nous ne pouvons ici qu'indiquer les principaux.

A. En premier lieu, l'étude histologique des gonidies vertes, qui se rencontrent chez un si grand nombre de Lichens, nous a fait découvrir une erreur qui s'étendait au type libre (*Cystococcus humicola*).

Jusqu'ici tous les Algologues et Lichénographes, si je ne me trompe, ont considéré comme noyau le gros corpuscule arrondi qui occupe le centre de la cellule (1) ; or, ce corpuscule est un pyrénôide analogue à celui des *Chlamydomonas* ; le véritable noyau est situé sous la membrane, presque au contact, et c'est lui qui a été décrit comme vacuole. Ce noyau est nucléolé, il possède une membrane nucléaire, des granules chromatiques. On peut arriver à colorer le protoplasma en jaune, le pyrénôide en bleu et le noyau en rouge, ce qui donne des préparations aussi belles que démonstratives. Nous avons suivi tous les stades de la division de ce noyau en rapport avec les bipartitions successives des gonidies (*Physcia parietina*, *Anaptychia ciliaris*, *Gyrophora pustulata*, etc.). Nous avons également observé cette division dans l'Algue rendue libre, pendant la formation du sporange.

On peut, de la même façon, mettre en évidence la structure propre des Trentepohliées qui vivent dans les *Graphis* et les *Opegrapha*, des *Protococcus* formant les gonidies des *Endocarpon*, etc. Je ne parle pas des Cyanophycées où les

(1) Famintzin et Baranetzky. Zur Entwick. der Gonidien und Zoosporienbildung der Flechten (*Mémoires de l'Académie des Sciences de Saint-Petersbourg*, XI, 1868). — Schwendener. *Die Algentypen der Flechtengonidien*, Bâle, 1869.

colorations d'Ehrlich font apparaitre la structure de ces algues (*Collema*, *Peltigera*, etc.).

B. Si nous considérons maintenant la partie mycélienne du Lichen, nous y trouvons la structure propre aux Champignons : les filaments sont réunis par de nombreuses anastomoses et divisés en cellules ; ces cellules, qu'elles soient allongées, comme dans la médulle, ou réunies en pseudo-parenchyme comme dans la couche corticale, ne renferment en général qu'un noyau (*Physcia*, *Anaptychia*, *Peltigera*, *Gyrophora*, *Parmelia*, *Collema*, etc.) : par exception, certaines cellules de la médulle possèdent deux ou trois noyaux (*Collema*, *Peltigera*) ; ces noyaux, qui présentent de légères différences de grosseur et de structure selon les espèces, ne diffèrent pas du type général connu chez les Champignons (1).

Dans les périthèces, les paraphyses peuvent être ramifiées et septées ; ici également chaque cellule ne renferme qu'un noyau ; la division des noyaux dans l'asque et les spores présente des phénomènes intéressants qui devront faire l'objet de développements spéciaux.

On s'attendrait à trouver certaines parties crustacées des Lichens complètement dépourvues de vitalité et réduites à un rôle protecteur ; il n'en est rien, et l'on constate jusque dans les rhizines la présence de noyaux en activité et de protoplasma.

(23 avril 1894).

(1) P.-A. Dangeard. Recherches histologiques sur les Champignons (*Le Botaniste*, 2^e série). — La reproduction sexuelle des Champignons (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule).

REPRODUCTION SEXUELLE DES ASCOMYCÈTES

Par P.-A. DANGEARD.

Il est peu de questions qui aient exercé autant que celle-ci la sagacité des observateurs, sans aucun résultat bien important.

En 1863, de Bary annonçait la découverte d'organes copulateurs chez les Ascomycètes (1), et ces idées devenaient classiques avec la publication de son ouvrage sur la morphologie et la physiologie des Champignons (2); il décrit dans l'*Erysiphe Cichoracearum* D. C. une cellule femelle et une anthéridie, constate que l'existence d'une copulation n'est pas improbable dans les *Eurotium* et signale l'existence d'organes réunis par paire et disposés en rosette dans *Peziza* (*Pyronema*) *confluens* (3); ce sont ces organes qui donnent naissance au périthèce.

Déjà Hofmeister avait cru voir une reproduction sexuelle dans le *Tuber aestivum* (4); il pensait que des filaments ténus, représentant des anthéridies, venaient s'appliquer sur les asques de divers côtés : aux points de contact, il

(1) De Bary. *Fruchtentw. d. Ascomyceten*, Leipzig, 1863.

(2) De Bary. *Morphologie und physiologie d. Pilze*, Leipzig, 1866.

(3) De Bary, *loc. cit.*, p. 162-164.

(4) Hofmeister. *Jahrb. f. wis. Bot.*, II, p. 378.

aurait existé des ponctuations ; l'asque des Truffes devait ainsi être comparé à un oogone de Saprolégnée.

Sollmann avait avancé de son côté l'idée que la formation des spores dans l'asque des *Nectria* était consécutive de la pénétration d'une spermatie (1).

De Bary, qui rapporte ces observations, démontre qu'elles sont mal fondées, et il conclut qu'en général les asques sont des organes simplement végétatifs (2).

A la suite de cette condamnation, l'idée de sexualité s'appliquant aux asques mêmes va disparaître pour longtemps, et l'attention des chercheurs se porte sur les phénomènes qui précèdent la formation du périthèce.

Le mémoire de Woronine consacré à l'étude de la structure et du développement de l'*Ascobolus pulcherrimus* (3), indique les premiers états du développement de la cupule : on y rencontre un corps vermiforme, composé d'une rangée de cellules courtes à diamètre supérieur à celui du mycélium ; d'autres filaments émettent des ramuscules ou polinodes qui viennent s'appliquer sur le corps vermiforme.

Tulasne constate la présence de ce corps vermiforme qu'il désigne du nom de scolécite dans l'*Ascobolus furfuraceus* et dans le *Peziza melanloma* (4), sans toutefois y voir un phénomène de copulation certain et constant ; par contre, il regarde comme une véritable conjugaison celle qui se produit entre les *macrocystes* et les *paracystes* du *Pyronema confluens*.

De nouveaux faits sont apportés par de Janczewski à

(1) Sollmann. *Bot. Zeitung*, 1864, p. 265.

(2) De Bary. *Morphologie und Biol.*, loc. cit., p. 165 : « Nach allen diesen Thatsachen werden die Asci der Ascomyceten allegemein fur geschlechtslose Fort pflanzungs organe zu halten sein ».

(3) De Bary et Woronine. *Beiträge Z. Morphologie und physiologie de Pilze*, Heft. II.

(4) L. R. et C. Tulasne. Note sur les phénomènes de copulation que présentent quelques champignons (*Ann. sc. nat., Bot.*, V^e série, tome VI, 1866).

l'appui de cette théorie d'une reproduction sexuelle chez les Ascomycètes ; le scolécite, sur lequel viennent s'appuyer intimement les pollinodes, est recourbé en virgule : une de ces cellules, dite cellule ascogène, fournit un certain nombre de filaments ou hyphes ascogènes qui donnent directement les asques (1).

Le périthèce a une origine différente dans les Collémacées, d'après Stahl (2) : la reproduction sexuelle changerait de caractère. Ainsi on voit une branche dite ascogène s'enrouler sur elle-même en plusieurs tours de spire et se prolonger ensuite jusqu'à la surface éclairée du thalle ; ce prolongement est le trichogyne à l'extrémité duquel les conidies viennent germer ; il y aurait là une fécondation à la façon des Floridées : la branche ascogène, déroulant ses tours, se ramifie pour donner les asques, alors que les filaments voisins forment du pseudo-parenchyme et les paraphyses.

Le genre *Polystigma* présenterait, selon Fisch, un mode de reproduction analogue (3).

Dans un travail très remarquable, Eidam (4) étudie le développement de quelques Ascomycètes : il nous fait connaître dans tous ses détails un nouveau type, l'*Eremascus albus* ; ce champignon est dépourvu de périthèce ; les asques sont libres sur le mycélium. Le développement débute par un cloisonnement d'un filament mycélien : au contact immédiat des cloisons, chaque cellule mycélienne pousse un rameau qui s'enroule avec celui de la cellule voisine ; ces deux rameaux s'anastomosent à leur sommet

(1) E. de Janczewski. Recherches morphologiques sur l'*Ascobolus furfuraceus* (Ann. sc. nat., Bot., Ve série, tome XV, 1872).

(2) E. Stahl. Beiträge zur Entwick. der Flechten. Heft I. Leipz. 1887.

(3) Fisch. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte einiger Ascomyceten (Bot. Zeitung, 1882).

(4) Eidam. Zur Kenntniss der Entwicklung bei den Ascomyceten (Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Vol. III, 1883).

et se séparent du mycélium par une cloison ; au point d'anastomose, une vésicule se produit ; elle grossit et devient un asque octospore : dans cette espèce, les asques sont supportés par les deux filaments copulateurs qui lui ont donné naissance. Quelquefois, la copulation fait défaut et l'asque est produit parthénogénétiquement au sommet d'un filament unique. Eidam considère l'*Eremascus albus* comme un terme de passage entre les Mucorinées et les Ascomycètes (1).

Disons tout de suite que Lagerheim vient de décrire un Ascomycète qui produit sensiblement ses asques de la même manière, ce qui lui a valu le nom de *Dipodascus* (2).

En 1884, de Bary expose dans un chapitre spécial : « Entstehung der Sporenfrucht » cette théorie de la reproduction sexuelle dont il avait été vingt ans auparavant l'initiateur ; outre les travaux qui précèdent, il utilise encore ceux de Fuisting (3), de Baranetzki (4), de Borzi (5), de Gilkinet (6), de Kihlman (7), de Krabbe (8), de Brefeld (9), de Van Tieghem.

De Bary insiste sur les cas qui lui paraissent le plus démonstratifs : ceux de l'*Eremascus albus*, du *Podosphæra*

(1) Eidam, *loc. cit.*, p. 385-392.

(2) Lagerheim. Le *Dipodascus albidus*, nouvel Hemiascus à reproduction sexuelle (*Pringsheim. Jahrb. f. W. Botanik*. Bd. XXIV, Heft 4).

(3) Fuisting. Zur Entwicklungsgesch. d. Pyrenomyceten (*Bot. Zeitung*, 1867-1868 et Zur Entw. d. Lichenen, *Bot. Zeit.*, 1868).

(4) Baranetzki. Entw. d. *Gymnoascus Reessii* (*Bot. Zeit.*, 1878).

(5) A. Borzi. Studi sulla sessualità degli Ascomycete (*N. Giorn. Botan. Ital.* Vol. X, 1878, p. 43).

(6) Gilkinet. Recherches sur les Pyrenomycètes (*Bullet. Acad. Belg.*, 1874).

(7) Kihlman. Zur Entwicklungsg. d. Ascomyceten (*Acta Soc. sc. Fennicae*. T. XIII. Helsingfors, 1883).

(8) Krabbe. Morph. u. Entwicklungsg. d. Cladoniaceen (*Berichte d. deuts. Bot. Gesellschaft*, 1883).

(9) Brefeld. *Bot. Untersuchungen über Schimmelpilze*. II (*Penicillium*) IV.

Castagnei, de l'*Eurotium repens*, de l'*Ascobolus furfuraceus*, du *Pyronema confluens* (1). Il est juste de reconnaître que la disposition qui se rencontre dans cette dernière espèce est bien de nature à induire en erreur, surtout avec les beaux développements fournis par Kihlman venant compléter ceux de Tulasne.

Cette théorie de la reproduction sexuelle n'a pas été adoptée par Brefeld (2), Zukal (3) ; mais son principal adversaire a été Van Tieghem, qui dans une série de notes en a signalé les points faibles. On trouvera l'indication de ces notes, ainsi qu'une réfutation complète de cette théorie, dans son *Traité général de Botanique*, 2^e édition ; d'après ce savant, les prétendus organes sexuels ne sont autre chose que des réservoirs nutritifs qui permettent à la plante de concentrer « en un point du thalle une réserve de substance assimilée, suffisante pour alimenter dans chaque cas particulier la formation du périthèce. Suivant l'espèce considérée et suivant les conditions de nutrition où elle se trouve placée, ce réservoir nutritif se constitue d'une manière un peu différente : voilà tout (4) ». Ailleurs il dit encore : « Remarquons, en terminant, que les partisans de l'origine sexuelle du périthèce des Ascomycètes sont forcés aujourd'hui d'admettre, dans des genres voisins : 1^o une sexualité à la façon des Péronosporacées ; 2^o une sexualité à la façon des Floridées, une sexualité perdue ou apogamie : autant d'hypothèses gratuites qu'il fallait peut-être signaler, mais qui ne doivent pas nous arrêter longtemps (5). »

(1) De Bary. *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze*, Leipzig, 1884.

(2) Brefeld. *Bot. Untersuch. über Schimmelpilze*, Leipzig.

(3) Zukal. Vorläufige mittheilung über die Entwick. des *Penicillium crustaceum* und einiger *Ascobolus* Arten. (*Sitzb. der kais. Akad. der Wissensch.* I. Abth, Nov. Heft., 1887).

(4) Van Tieghem. *Traité général de Botanique*, 2^e édition, p. 113².

(5) Van Tieghem, *loc. cit.*, p. 1166.

Il en est de ces questions difficiles comme des voyages aux pays inconnus : le nombre des insuccès ne fait qu'augmenter le zèle des explorateurs jusqu'à ce que l'un d'eux plus heureux ait trouvé une voie de pénétration.

Il y a dix ans, alors que, préparateur de Botanique à la Faculté de Caen, je cherchais à aborder les recherches originales, la question de la sexualité des Champignons était une de celles qui m'avaient attiré : j'écrasais consciencieusement sous une lamelle des morceaux d'Agaric, des périthèces d'Ascomycètes ou des fragments de Mycéliums.

Depuis cette époque, j'ai travaillé un assez grand nombre de sujets différents, mais aucun résultat ne m'a produit la satisfaction que j'ai éprouvée le jour où j'ai vu dans *Peziza vesiculosa*, ce que devait être la reproduction sexuelle dans le groupe tout entier des Ascomycètes.

Il n'est pas superflu peut-être d'indiquer en deux mots comment j'ai été conduit à cette découverte.

Dans la recherche des phénomènes sexuels chez les Urédinées (1) et les Ustilaginées, nous n'avions été guidé d'abord que par une préoccupation : chercher dans tout le développement le moment où se produit une fusion de noyaux : l'ayant trouvé, afin d'appuyer nos conclusions nous avons dû considérer la nature de l'organe dans lequel s'est opérée cette fusion, comparer ensuite cet organe avec les formations nettement sexuelles appartenant à d'autres groupes.

« Prenons un œuf de *Chlamydomonas*, disions-nous ; nous voyons que le noyau de l'oospore ne donne pas directement celui de la nouvelle plante ; il subit un nombre de bipartitions déterminé, qui, ici, donne naissance à quatre nouveaux noyaux qui sont ceux des nouvelles zoospores ; dans un *Volvox*, le noyau fournira un nombre plus grand de bipartitions pour la nouvelle colonie : dans

(1) Pour les Urédinées, en collaboration avec M. Sappin-Trouffy.

les *Closterium* et les *Cosmarium*, le nombre des bipartitions est également déterminé et, si nous appelons du nom général d'*embryon* la nouvelle plante provenant de la germination de l'œuf, nous constatons que pour arriver à ce stade le noyau de l'œuf subit toujours un nombre déterminé de divisions (1) ».

C'est ce qui nous faisait ajouter plus loin :

« Ce raisonnement nous conduit à considérer dans les Ascomycètes le noyau de l'asque comme un noyau sexuel provenant de la fusion d'un noyau mâle et d'un noyau femelle ; il subit, en effet, un nombre déterminé de divisions pour arriver à fournir le noyau du nouvel individu, de la spore, qui équivaut pour nous à l'embryon tel que nous l'avons défini précédemment (2) ».

Ceci se passait en janvier dernier : il s'agissait de vérifier si l'étude directe nous donnerait raison. Nous avions contre nous l'opinion de Schmitz et de Strasburger qui n'ont signalé qu'un noyau dans les asques jeunes.

Les premiers essais entrepris sur des périthèces de Lichens ne furent pas encourageants : nous trouvions aussi de jeunes asques avec un seul noyau ; peu s'en est fallu que nous abandonnions cette direction, découragé ; ce qui nous détermina à persister, ce furent quelques indices rencontrés avec beaucoup de peine dans les périthèces de *Borrera ciliaris*. Bien que l'on trouve généralement des asques à tous les âges dans une section de périthèce, il est loin d'être facile d'assister au début de leur formation sur le stroma : c'est ce qui explique pourquoi des milliers d'observateurs — le chiffre n'est pas exagéré — ont passé journellement à côté de cette reproduction sans s'en douter. Or, dans le *Borrera ciliaris*, à force d'examiner une certaine quantité de préparations, notre attention fut

(1) P.-A. Dangeard, *loc. cit.*, p. 235.

(2) P.-A. Dangeard, *loc. cit.*, p. 239.

mise en éveil par de petites vésicules à deux noyaux qui paraissaient donner naissance aux asques; elles étaient supportées par deux filaments comme dans l'*Eremascus albus*; de plus, en essayant de suivre dans le stroma les asques déjà formés, nous acquîmes la conviction que ces organes n'étaient pas de simples prolongements mycéliens: leur pied était élargi et plusieurs fois je retrouvai la trace des deux filaments supports (fig. 1).

A partir de ce moment, nous savions exactement ce qu'il fallait chercher; mais il nous fallait des échantillons en bon état, ayant de plus une structure favorable à ce genre d'observations; c'est dans *Peziza vesiculosa* que, pour la première fois, il nous fut possible d'arriver à des résultats assez précis pour être communiqués à l'Académie des sciences; les voici (1):

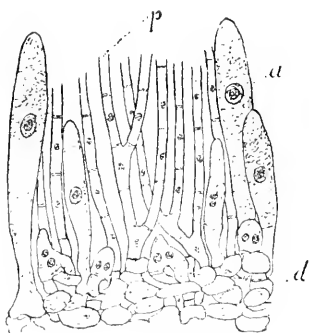


FIG. 1. — *Borreria ciliaris*.

Portion de périthèce avec les paraphyses septées *p* et les oospores *d*; *a* asques à un seul noyau provenant de ces oospores après fécondation.

« En indiquant récemment l'existence d'une reproduction sexuelle chez les Ustilaginées, nous faisons prévoir qu'elle existait également chez les Champignons supérieurs, les Ascomycètes (2); nous pouvions même indiquer à quel endroit du développement on avait chance de la découvrir (3).

Déjà, en effet, chez diverses petites espèces d'Ascomy-

(1) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle chez les Ascomycètes (*Comptes rendus, Acad. des Sciences*, n° 19, 7 mai 1894).

(2) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Ustilaginées (*Comptes rendus*, n° 15; 9 octobre 1893).

(3) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Champignons (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule, p. 239, 15 janvier 1894).

cètes, nous avons entrevu la fécondation ; mais ce n'était ni assez général, ni assez précis pour autoriser l'affirmation d'un fait de cette importance ; aujourd'hui nos observations effectuées sur une grande espèce, *Peziza vesiculosa* Bull. sont concluantes ; la reproduction sexuelle s'y produit avec des caractères tels qu'on peut affirmer sans crainte qu'elle a lieu de la même façon dans le groupe tout entier.

Dans le périthèce, le stroma, qui en occupe le fond, donne naissance à des asques et à des paraphyses. Ces dernières sont de simples filaments mycéliens dont nous ne nous occuperons pas davantage ; quant aux asques, nous allons voir qu'ils doivent leur existence à un nombre égal d'œufs ou oospores formées dans le stroma à diverses profondeurs. Pour produire un œuf, deux filaments assez gros s'approchent au contact : une cloison délimite dans chacun d'eux une cellule terminale à un seul noyau ; ce sont les deux cellules copulatrices. Ces deux gamètes se réunissent par une anastomose ; les protoplasmas se mélangent ; les deux gros noyaux nucléolés se fusionnent presque immédiatement. D'après ce qui précède, on voit que, dans le stroma, l'œuf occupe l'extrémité de deux filaments copulateurs.

La fécondation opérée, l'œuf se prolonge à son sommet en un tube qui, beaucoup plus loin, se renfle en forme d'asque ; le noyau sexuel unique y pénètre et se rend à l'extrémité supérieure. C'est là qu'il subit un nombre déterminé de bipartitions, de façon à fournir un noyau à chaque embryon, à chaque spore.

En résumé, les asques proviennent d'oospores, qui résultent de l'anastomose de deux filaments copulateurs distincts ou gamètes ; chaque gamète possède un seul noyau. Les oospores, dans lesquelles la fécondation s'est opérée, se prolongent en un sac qui est l'asque ; le noyau sexuel s'y divise pour donner les huit noyaux des spores.

La reproduction sexuelle est donc nettement caractérisée : 1° par l'existence de gamètes distincts ; 2° par la fusion des noyaux ; 3° par le nombre déterminé des bipartitions du noyau sexuel.

Les asques ayant exactement les mêmes caractères dans tout le groupe, il n'est pas téméraire d'affirmer qu'ils doivent partout naissance à des phénomènes identiques.

Nous n'avons pas à insister sur les modifications profondes que devront subir les idées classiques ; nous préférons constater que, seuls, les exemples tirés de l'*Eremascus albus* Eidam (1) et du *Dipodascus albidus* (2) se trouvent avoir leur signification consacrée par notre découverte. »

Après avoir constaté que les asques étaient, dans la *Peziza vesiculosa*, le résultat d'une fécondation, il était tout naturel de penser que partout, dans tous les genres et dans toutes les espèces, ces organes qui ont la même signification ont également une origine identique. Nous nous sommes proposé de vérifier le fait pour un certain nombre d'échantillons pris à tous les degrés de cette classe, et nous commencerons cette étude par ceux qui présentent l'organisation la plus simple.

EXOASCI.

Dans ce groupe, le mycelium est tantôt simple, tantôt ramifié, et chaque cellule peut se transformer directement en asque ; il était particulièrement intéressant, à cause même de cette structure simplifiée, de voir si, malgré cette réduction, il y avait quand même fécondation.

Dans les Saccharomycètes, nous avons démontré la présence d'un seul noyau dans chaque cellule pendant le

(1) Eidam. *loc. cit.*

(2) Lagerheim. Le *Dipodascus albidus*, nouvel *Hemiascus* à reproduction sexuelle (*Pringsheim. Jahrb. f. w. Botanik*, Bd. XXIV, Heft. 4).

bourgeonnement (1); mais nous n'avons pas réussi jusqu'ici à observer la formation des asques ou des organes considérés comme tels : il sera excessivement curieux de voir si, au moment de cette formation, la cellule destinée à devenir l'asque renferme deux noyaux opérant leur fusion.

On peut cependant prévoir ce résultat d'après l'étude très complète que nous avons pu faire de la cloque du pêcher (*Exoascus deformans*) : ce parasite appartient à une famille voisine des Saccharomycètes, celle des *Exoascacées*.

Cette espèce est facile à rencontrer ; mais il est nécessaire, dans la fixation des matériaux d'étude, de ne pas oublier le but que l'on se propose ; sur certaines feuilles, la production des asques est à son déclin : il est nécessaire de choisir celles sur lesquelles le parasite ne fait que commencer à fructifier ; d'autre part, afin de se rendre compte de la façon dont le parasite végète, on commencera de préférence à examiner des sections transversales de feuilles.

Dans ces sections, on observe une déformation considérable du parenchyme : ce parenchyme est en effet le siège de cloisonnements anormaux s'effectuant dans toutes les directions : çà et là, on y trouve des lacunes provenant de déchirements : à la face externe, quelques assises du mésophylle conservent leur structure normale et les faisceaux libéro-ligneux se trouvent reportés au voisinage de ces assises.

Le parasite occupe la face interne du limbe : la disposition régulière de ses éléments simule un véritable épiderme ; en réalité, les cellules de l'*Exoascus* se trouvent situées dans les couches cuticulaires ; les cellules épider-

(1) P.-A. Dangeard. Sur la structure des Levures et leur développement (*Le Botaniste*, 3^e série, p. 282-286).

miques, deux fois environ plus hautes que larges, sont au-dessous, sans qu'il y ait trace à leur contact de parenchyme palissadique.

Chacune des cellules de l'*Exoascus deformans* possède deux noyaux ; ces noyaux sont petits, nucléolés distinctement et sont limités extérieurement par une membrane nucléaire à double contour ; ils sont placés à côté l'un de l'autre dans le tiers inférieur de la cellule.

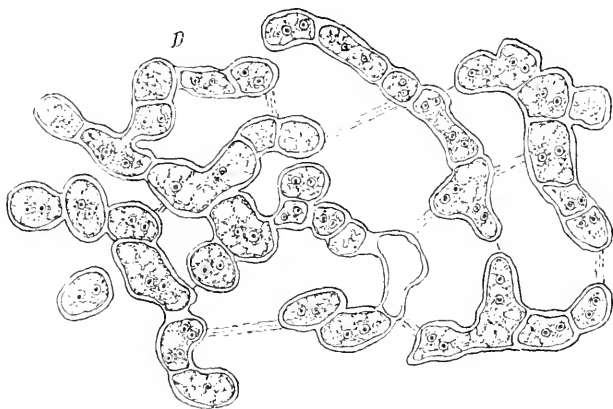


FIG. 2. — *Exoascus deformans*. — Thalle vu de face.
Chaque article renferme deux ou quatre noyaux.

Pour suivre le mode de formation de ces éléments, il est préférable d'enlever au rasoir des tranches minces superficielles : on voit alors que le thalle est formé de gros filaments rameux : les cellules qui les composent sont irrégulières, longues ou courtes, arrondies ou cylindriques : elles renferment en général deux noyaux, sauf celles qui vont se cloisonner : ces dernières en ont quatre : elles sont terminales ou intercalaires (fig. 2).

Donc, normalement, chez l'*Exoascus deformans*, la cellule possède deux noyaux.

Les filaments, dans la cuticule, suivent d'abord les lignes d'attaches des cloisons épidermiques, formant ainsi

un réseau à mailles hexagonales ; un peu plus tard, toute la surface se trouve envahie : c'est à ce moment qu'a lieu la formation des asques.

Les cellules qui vont produire les asques augmentent de volume : elles ont deux noyaux ; dans chacune d'elles, les deux noyaux se rapprochent au contact, se fusionnent ; le noyau sexuel qui en résulte montre un gros nucléole et une membrane nucléaire nettement délimitée ; il augmente

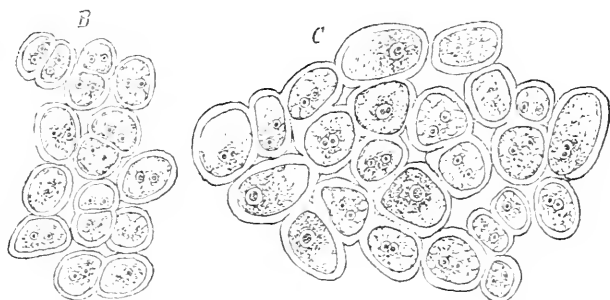


FIG. 3. — *Exoascus deformans*. B : Stade précédant la formation des asques. C. diverses phases de la fusion des noyaux.

de volume en même temps que la cellule ; dans celle-ci, le protoplasma devient plus dense, plus granuleux ; il montre pour les réactifs une plus grande affinité, et tous ces caractères permettent de distinguer nettement les cellules dans lesquelles s'est opérée la fécondation (fig. 3).

Pour l'étude de ce qui va suivre, il est préférable d'avoir de nouveau recours aux sections transversales.

Après la fécondation, il n'y a pas chez les Ascomycètes un long temps d'arrêt ; on peut dire que la germination est immédiate : nous voyons l'oospore percer la cuticule et se développer en une papille de même diamètre qui n'est autre chose que l'asque : le noyau est alors très gros, vésiculeux ; son nucléole est dense ; le protoplasma qui l'entoure devient lacuneux : ce noyau se porte vers le

milieu de l'asque où il subit les trois bipartitions successives qui fourniront un noyau à chacune des spores (fig. 4).

L'asque se sépare, dans cette espèce, de l'oospore par une cloison basilaire : la présence d'une cloison n'a pas d'importance ; nous ne la retrouvons pas dans les Ascomycètes plus élevés en organisation ; elle manque même dans les espèces voisines de celle-ci.

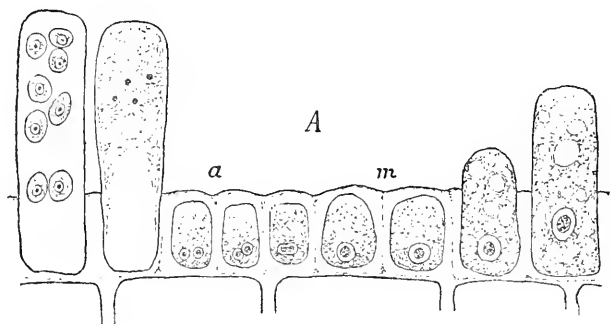


FIG. 4. — *Exoascus deformans*. Oospores pendant la fécondation (a m) et pendant leur développement en asques.

Il n'en est pas moins exact de dire que l'asque a la valeur d'un promycélium d'Ustilaginée ou d'Urédinée : c'est dans ce promycélium qu'a lieu la division du noyau sexuel ; ce sont les noyaux provenant de cette division qui passeront dans les embryons, embryons qui ici sont endogènes et là exogènes : c'est là toute la différence.

Remarquons en passant combien il est utile de faire des recherches en ayant en vue la réalisation d'une idée.

Sadebeck a étudié avec beaucoup de soin les *Exoascées* (1) : on sait qu'il a vu chez ces plantes le noyau se diviser indirectement ; mais n'ayant pas prévu l'existence

(1) Sadebeck. Kritische Untersuchungen über die durch Taphrina-Arten hervog. Baumkrankheiten (*Jahrb. der Hamburgischen Wis. Anstalten* VIII, 1890).

d'une fécondation, il n'a pas signalé l'existence de deux noyaux dans les asques jeunes ni vu leur fusion ; l'observation n'a pourtant rien de particulièrement difficile, et je pense que maintenant tous ceux qui auront à étudier ce groupe verront nettement les faits que nous venons d'exposer ; il leur suffira d'un bon objectif à immersion, s'ils ont déjà la pratique de la technique histologique ordinaire.

La difficulté d'observation est plus grande dans les exemples qui vont suivre, par suite de l'existence d'un périthèce renfermant les organes sexuels.

CARPOASCI

C'est dans ce groupe que se rangent le plus grand nombre des Ascomycètes : il est caractérisé par l'existence d'organes particuliers renfermant les asques : ce sont les périthèces ; nous pouvons ici adopter sans inconvénient la division en Discomycètes, Pyrénomycètes et Périsporiacées.

A. *Discomycètes*.

Nous avons pu nous procurer et étudier quelques représentants de cette famille appartenant aux genres *Peziza*, *Helvella*, *Geoglossum*, *Morchella*, *Acetabula*.

1° *Peziza vesiculosa* Bull.

Les échantillons de cette Pézize ont été récoltés, dans une excursion commune, par M. Poirault, professeur à l'Ecole de médecine de Poitiers ; il a bien voulu nous les abandonner pour l'étude particulière à laquelle nous les destinions.

Rien ne vaut, pour une observation aussi délicate que la recherche des organes sexuels, un échantillon au développement voulu ; trois jours après la récolte de cette Pézize,

j'étais fixé sur la réalité d'une fécondation chez les Ascomycètes, alors que je travaillais ce sujet sans grand succès depuis plusieurs mois sur des périthèces de Lichens.

La section du périthèce permet de distinguer les parties suivantes :

1° La surface inférieure est formée d'une couche corticale de pseudo-parenchyme ; les cellules qui la composent sont grandes, plus hautes que larges ; elles se continuent avec les mêmes caractères jusqu'au bord de la cupule.

2° Le fond de la cupule est formé par un stroma qui fournit les asques ; nous aurons à l'étudier en détail.

3° Entre ce stroma et la couche de pseudo-parenchyme, il existe une grande épaisseur de tissu formé par de longues hyphes qui se croisent et s'entrecroisent ; elles sont cylindriques et possèdent à peu près toutes le même diamètre : au moment de la fructification, le protoplasma a disparu, et il ne reste plus que quelques petits noyaux en voie de régression ; les cloisonnements sont rares dans ces hyphes, et chaque article est plurinucléé.

Dans le périthèce, ce sont les paraphyses qui se montrent tout d'abord : elles représentent de simples prolongements des hyphes qui se ramifient au niveau du stroma ascifère ; ces paraphyses très longues et étroites sont septées ; les cloisons offrent une apparence remarquable ; on dirait deux cribles séparés par une ligne incolore ; une apparence semblable se rencontre dans les cloisons des hyphes.

L'étude du stroma ascifère est délicate ; elle exige un excellent instrument et une grande habitude : parmi les colorants, nous conseillons de choisir l'hématoxyline en cristaux pour certains détails ; une double coloration bien graduée avec l'hématoxyline et le picro-carmin ou avec ce dernier et le bleu d'aniline pour les noyaux ; il faut s'adresser à des périthèces jeunes s'il est possible, ou essayer d'y suppléer, si les échantillons sont un peu trop

âgés, par des sections très rapprochées du bord de la cupule ; ces sections seront faites tangentiellement à ce bord.

Dans ces sections, on trouve généralement, au milieu des paraphyses, des asques à tous les âges (fig. 5) ; l'attention ne peut manquer de se trouver arrêtée sur des cellules à deux noyaux dans lesquelles le protoplasma s'est accu-

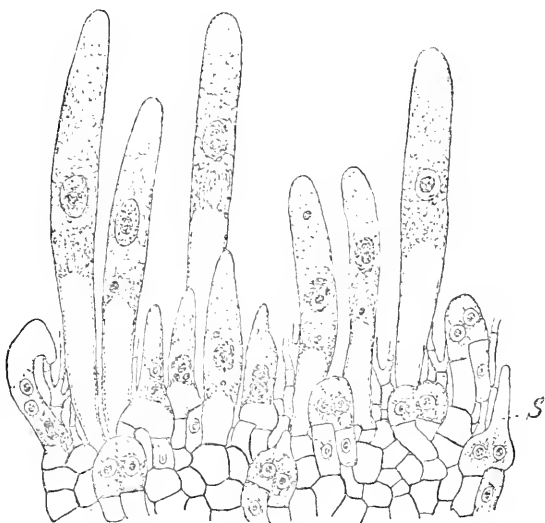


FIG. 5. — *Peziza vesiculosa*. Bull. — Stroma occupant le fond du périthèce avec des oospores et des asques à tous les états de développement.

mulé : elles existent à diverses profondeurs dans le stroma ascifère ; comme elles renfermant un protoplasma de choix se colorant fortement par les réactifs, alors que les éléments environnants restent presque incolores, on les distingue assez aisément. Il est plus difficile de se rendre compte de leur origine ; on arrive encore bien à voir que ces cellules à deux noyaux reposent sur deux filaments mycéliens, et l'analogie avec la disposition caractéristique des *Eremascus* et *Dipodascus* est évidente ; il semble que cette cellule à deux noyaux résulte d'une anastomose ter-

minale des deux filaments : certains aspects paraissent démonstratifs, et c'est ce que j'ai pensé tout d'abord. Cependant, ayant examiné des centaines de préparations, je suis arrivé à me convaincre qu'au moins très fréquemment, la cellule à deux noyaux, l'oogone, avait une origine un peu différente ; elle est représentée (fig. 6) par des dessins faits à la chambre claire. Un filament vient dans le stroma ascifère et son extrémité incolore se recourbe en

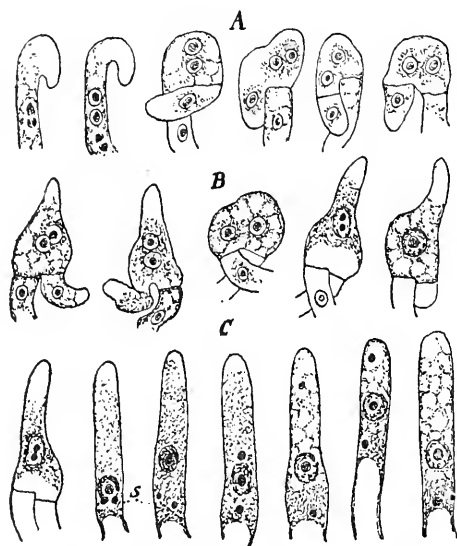


FIG. 6. *Peziza vesiculosa*. Bull. A. Formation des oospores à deux noyaux :
B. Aspects divers de ces oospores et débuts de la germination :
C. Jeunes asques après la fécondation.

bec : à ce moment, nous avons vu un noyau en division dans le filament ; la partie recourbée s'allonge et vient s'accoler sur l'autre ; elle peut même se porter à quelque distance à droite et à gauche ; un second noyau a subi une division dans le filament de telle sorte qu'il y a maintenant quatre noyaux.

Deux de ces noyaux occupent la partie bombée, qui s'isole à la fois du filament et de son extrémité recourbée

par une cloison ; les deux cloisons sont quelquefois à un niveau un peu différent.

Notre attention doit maintenant se porter tout entière sur cette cellule à deux noyaux : c'est là que va se produire la fécondation, qui aura comme résultat immédiat la formation de l'asque. Les deux noyaux sexuels montrent de la manière la plus nette une membrane nucléaire à double contour et un nucléole dense, ayant une grande élection pour les réactifs colorants ; le protoplasma qui les entoure se colore également bien ; l'oogone se prolonge en une papille, début de l'asque ; c'est à ce moment qu'a lieu la fusion des deux noyaux sexuels : ils se portent l'un vers l'autre, se pénètrent et mélangent leurs protoplasmes et leurs nucléoles. Le noyau unique qui en résulte, outre la membrane nucléaire et son nucléole, montre maintenant dans son hyaloplasme un certain nombre de filaments chromatiques : son volume augmente (fig. 6).

Le protoplasma de l'oogone passe dans l'asque ; celui-ci s'allonge ayant en son milieu le noyau sexuel unique ; nous devons signaler l'existence à ce moment de deux globules homogènes, à contour nettement défini ; leur situation n'est pas fixe : une seule fois, nous les avons trouvés au contact du noyau, ce qui éveillait l'idée qu'ils pouvaient en provenir ; mais le plus souvent, ils sont l'un en avant, l'autre en arrière du noyau à des distances variables. Leur caractère de généralité ne permet pas de les considérer comme de simples globules oléagineux ; ils doivent rentrer dans la catégorie des « centrosomes » ou « sphères attractives ».

Le rôle de ces corps, leur origine sont encore bien problématiques : les divers auteurs qui se sont occupés du sujet, soit chez les plantes, soit chez les animaux, sont loin d'être d'accord.

Hertwig pense, sans toutefois l'affirmer, que les centrosomes sont des éléments nucléaires qui n'apparaissent

dans le protoplasma qu'un peu avant la division et que leur apparition coïncide avec la disparition des nucléoles (1) ; Van Beneden les considère comme des éléments protoplasmiques constants de la cellule.

On doit à Julin de nombreuses observations sur ces corps : il admet l'origine nucléaire des centrosomes ; ainsi dans la *Stielopsis*, ces corpuscules disparaissent après chaque division dans les éléments sexuels en évolution ; on dirait qu'ils pénètrent à l'intérieur du noyau où un nucléole apparaît à nouveau : ce dernier disparaît à l'approche d'une division ; un centrosome se montre au contact de la membrane nucléaire, se divise en deux ; centrosome et nucléole sont constitués par de la paranucléine : alors que, dans l'espèce citée, le centrosome disparaît rapidement son rôle terminé, ailleurs, il persisterait assez longtemps, jusque dans l'œuf fécondé, etc'est lui qui constituerait le corps vitellin de Balbiani (2).

Frick est arrivé à des résultats analogues (3). Henneguy conclut de ses recherches (4) à la grande dispersion dans toutes les classes du règne animal, du corps vitellin de Balbiani : ce corps provient de la vésicule germinative et paraît être constitué par de la substance nucléolaire, dont il partage les réactions vis-à-vis des matières colorantes (*Loc. cit.* p. 35).

Les conclusions d'un récent travail de Balbiani sont également de la plus grande importance ; nous en citerons quelques-unes :

1° Le noyau vitellin (Dotterkern) des Aranéides est l'homologue du Nebenkern (centrosome de Platner) des

(1) Hertwig. *Die Zelle und die Gewebe*, 1892.

(2) Julin. Structure et développement des glandes sexuelles chez *Styelopsis grossularia*. (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, T. XXV.)

(3) *Berichte der Naturforscher Gesellschaft*, Freiburg. i. Br. Bd. VIII.

(4) Henneguy. Le corps vitellin de Balbiani dans l'œuf des Vertébrés (*Journal de l'anatomie et de la physiologie*, T. XXIX, n°4).

cellules séminales et du centrosome des cellules somatiques.

2° Il a pour origine le noyau ou vésicule germinative du jeune ovule.

3° En raison de l'homologie qui existe entre le noyau vitellin et le centrosome, il est probable que ces deux éléments ont une origine nucléaire identique (1).

Guignard s'est prononcé pour la nature protoplasmique des « sphères attractives », en même temps qu'il indiquait leur fusion au moment de la fécondation (2).

Karsten identifie les nucléoles qu'il a vu sortir du noyau au moment de la division, avec les centrosomes de Guignard, et il pense que l'on observera une pareille relation chez les autres plantes (3).

En présence d'avis aussi différents sur l'origine et le rôle des centrosomes, on doit noter avec soin tout ce qui les concerne.

1° Dans l'asque de la Pézize, les centrosomes sont au nombre de deux ; nous les avons vu seulement apparaître après la fusion des noyaux.

2° Sans rien préjuger ici sur leur origine, nous les avons observés réunis au contact de la membrane nucléaire.

3° Dans l'asque plus âgé, ils sont en général, l'un en avant, l'autre en arrière du noyau, à des distances variables ; le supérieur devient de moins en moins net ; l'inférieur persiste plus longtemps dans cette sorte de bouchon gélatineux, colorable à l'hématoxyline qui limite vers le bas le protoplasma de l'asque.

Sont-ce ces deux centrosomes qui président à la division

(1) Balbiani. Centrosome et Dotterkern (*Journal de l'anatomie et de la physiologie*, T. XXIX, n° 2, p. 173-174).

(2) Guignard. Nouvelles études sur la fécondation (*Ann. sc. nat. Bot.* Tome XIV, 1894, p. 276).

(3) Karsten. Ueber Beziehungen der Nucleolen zu den Centrosomen bei *Psilotum triquetrum* (*Berichte der deutsch. bot. Gesellschaft*, Vol. XI, p. 555).

dunoyau del'asque telle que l'a décrite P. Gjurasin (1) ? Peut-être, mais nous ne voulons rien avancer ; en effet, nous n'avons pas vu dans nos préparations les divers stades de division tels qu'ils ont été figurés par cet auteur ; nous avons assisté à une sorte de dégénérescence du nucléole : ce dernier, très gros, devenait lacuneux, puis se réduisait à un anneau et enfin disparaissait je ne sais trop comment ; quant aux bipartitions mêmes du noyau, nous avons vu les masses chromatiques se diviser au sein du protoplasma, sans former de figures karyokinétiques ; plus tard, le noyau de chaque spore se divise en deux : chaque spore de l'asque a donc deux noyaux.

2° *Helvella Ephippium* Lév. (2).

Cette espèce avait été recueillie par nous, il y a plusieurs années, dans une des grandes serres du jardin botanique de Caen ; elle vivait sur la terre des caisses à palmiers.

Une section du périthèce montre plusieurs couches différenciées :

1° A la partie inférieure (fig. 7), un pseudo-parenchyme composé de cellules plus longues que larges ; elles se prolongent superficiellement en poils unisériés ou pluri-sériés *p* ; chacune de ces cellules, au moment où nous l'examinons, est dépourvue de protoplasma : dans son contenu aqueux, on aperçoit seulement la trace de deux noyaux ou davantage : ils sont en voie de disparition.

2° Dans la couche moyenne, les filaments mycéliens ont sensiblement le même diamètre : ils se croisent et s'entrecroisent dans toutes les directions ; les cloisons sont assez espacées, et chaque article peut renfermer six,

(1) Gjurasin. Ueber die Kerntheilung eiden Schläuchen von *Peziza vesiculosa* (*Berichte der Botanischen Deutschen Gesellschaft*, Heft. 2 ; 1983).

(2) La détermination est due à M. le professeur Saccardo que nous remercions cordialement.

sept ou même dix noyaux : on trouve en outre dans cette couche des tubes articulés à diamètre variable : leur membrane est épaisse et colorée ; au milieu du protoplasma, on voit des masses chromatiques arrondies de diverses grosseurs : elles sont délimitées nettement et représentent des noyaux.

3° On arrive au stroma fructifère s : c'est là que se concentre le protoplasma ; toute l'activité de la plante se porte de ce côté : c'est dans cette couche que se rencontrent à diverses profondeurs et à divers états les oospores : elles sont à deux noyaux très nets et elles rappellent exactement celles de *Peziza vesiculosa* : elles se développent de la même façon ainsi qu'en témoignent les fig. r, a, m, fig. 7, dessinées à la chambre claire dans le stroma ; au-dessus du stroma ascifère, se trouvent les asques développés et les paraphyses, ces dernières septées.

Nous pouvons conclure que les *Helvella* se comportent exactement comme les *Peziza* au point de vue de la reproduction sexuelle. Bien que les échantillons que nous avons eus à notre disposition fussent trop avancés pour noter le début des asques, nous croyons pouvoir également, à la suite d'un examen attentif de la partie inférieure des asques, ajouter que les *Morilles* ont une reproduction sexuelle identique ; nous sommes arrivé à la même conclusion en étudiant le *Geoglossum hirsutum* Pers.

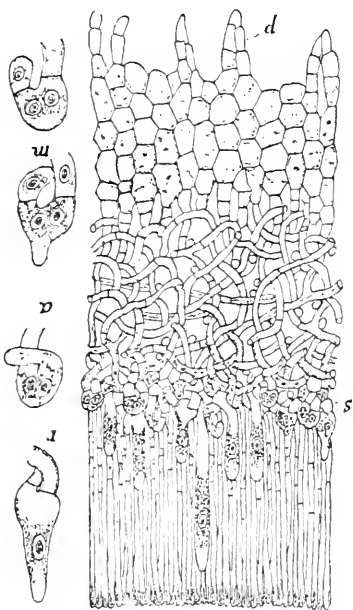


FIG. 7. — *Helvella Ehippium*. — Section schématique du périthèce.

3° *Acetabula Calyx* Sacc.

Cette espèce a été recueillie à ses premiers états de développement sur de vieilles cultures de crottin : il y a de très grandes différences entre les échantillons. M. le professeur Saccardo consulté n'a pu donner cette détermination qu'avec doute, par suite de l'état trop jeune des échantillons.

Il est assez difficile de la prendre à l'état voulu pour la recherche des phénomènes sexuels : elle est souvent ou un peu trop avancée ou pas assez ; nous avons fini par rencontrer un individu qui nous a fourni le dessin à la chambre claire de la fig. 8. On y voit clairement que les oospores ont deux noyaux comme dans les *Pézizes* et les *Helvelles* : elles ont la même origine, mais elle est plus difficile à mettre en évidence que chez *Peziza vesiculosa*.

FIG. 8. — *Acetabula Calyx* Sacc.
Stroma ascifère dans un jeune périthèce ; *d*, oospores, *p*, paraphyses septées.

Dans le stroma, le tissu est formé de gros filaments entrelacés ; dans la couche moyenne, il y a en outre de très grandes cellules : avant la formation des asques, ces éléments contiennent un protoplasma excessivement hyalin et homogène : ils renferment de nombreux noyaux sous forme de taches chromatiques composées de granulations serrées les unes contre les autres (fig. 9).

Plus tard, les asques apparaissent au milieu des paraphyses, et les divers éléments précédents ne renferment plus que des trabécules protoplasmiques dans lesquels

les noyaux persistent avec leurs caractères : les grandes cellules possèdent fréquemment de vingt à trente noyaux (fig. 9).

La différence entre ces noyaux et ceux des oospores et des asques est frappante; les premiers n'ont pas de nucléoles : ce sont de petites granulations chromatiques, alors que les noyaux de l'oospore possèdent de très gros nucléoles et ont une membrane nucléaire à double contour : nous avons remarqué également que le protoplasma contenant le noyau sexuel provenant de la fusion persistait assez longtemps vers la base de l'asque.

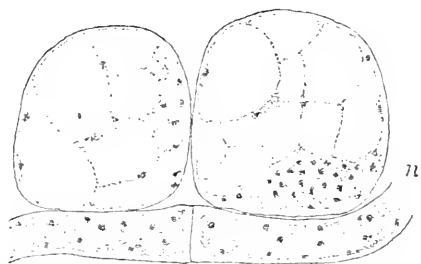


FIG. 9. — *Acetabula Calyx* Sacc. Éléments du thalle avec leurs nombreux noyaux *n*.

Nous voyons, en résumé, que l'étude de cette espèce vient confirmer tout ce qui a été dit précédemment sur la reproduction sexuelle dans ce groupe. Lorsqu'on voit le nombre des noyaux si irrégulier, si variable dans les diverses couches du périthèce, tomber invariablement à deux dans la cellule ascifère ; lorsqu'on constate que le noyau unique de l'asque provient sans exception de la fusion de ces deux noyaux, il me paraît bien difficile de refuser à cet acte le nom de fécondation.

B. *Pyrénomycètes*.

Les espèces précédentes ne nous ont fourni que peu de renseignements sur le mode de division du noyau de l'asque : cette division est plus facile à suivre dans les périthèces de l'*Endocarpon miniatum* Ach.

Sans décrire en détail la structure du thalle qui fera partie d'un mémoire sur les Lichens, nous remarquerons

que toutes les cellules ne renferment qu'un noyau ; ce noyau est sphérique, contient quelques granulations chromatiques et un très petit nucléole excentrique.

Il est excessivement difficile d'observer les débuts de l'asque sur le stroma mycélien qui tapisse les corbeilles périthéciales ; lorsqu'on y arrive, on voit que l'asque débute par une papille dont les relations exactes avec les cellules du stroma n'ont pu être établies ; mais le fait important existe ; chacune de ces papilles, *tout à fait jeune*, renferme deux noyaux : ces noyaux ne diffèrent pas sensiblement pour la grosseur et la structure de ceux du thalle : le nucléole arrondi est cependant un peu plus gros et les granules chromatiques se trouvent rejetés d'un côté ; d'après les dessins que nous possédons, ce sont les masses chromatiques qui opèrent d'abord leur fusion latéralement ou dans le sens de l'asque ; cette fusion doit s'accomplir très rapidement, car sur les asques un peu plus âgés, la fusion est complète ; on n'y rencontre plus qu'un noyau unique ; ce dernier a augmenté de volume : la masse nucléaire, nettement délimitée, a la forme d'un demi-cercle ou d'un croissant ; les granulations chromatiques s'y détachent nettement au nombre d'une douzaine environ ; le nucléole, très gros, arrondi, dense et homogène, se trouve le plus souvent en avant ; il n'est que faiblement rattaché à la masse nucléaire et, un peu plus tard, son indépendance paraît complète.

L'asque se développe en longueur ; son protoplasma est hyalin et homogène : le noyau vient occuper la moitié ou le tiers supérieur de l'organe : il est précédé en général de son nucléole situé à une distance variable ; la masse nucléaire a encore augmenté de volume, alors que la grosseur du nucléole est restée à peu près stationnaire ; il abandonne même à ce moment de sa substance, probablement au profit du noyau ; lorsque ce dernier s'allonge en fuseau selon l'axe, pour la première bipartition, le nu-

cléole réduit à un petit globule occupe la place du centrosome qu'il paraît remplacer ; puis il disparaît tout à fait.

Dans le fuseau nucléaire, j'ai bien vu la plaque équatoriale dans laquelle j'ai compté une vingtaine de granulations chromatiques ; au stade deux, la division est encore indirecte : les quatre noyaux qui en proviennent sont encore assez gros, arrondis, espacés régulièrement ; nous n'avons aperçu à ce moment ni nucléole, ni centrosome.

Pendant la dernière bipartition, le protoplasma change de caractère ; il devient granuleux et trabéculaire ; les huit noyaux s'espacent régulièrement ; les nucléoles redeviennent apparents ; autour de chaque noyau les spores s'organisent ; leur protoplasma est clair, réticulé, alors que l'épiplasme qui les limite est granuleux ; la membrane de la spore se forme, s'épaissit dans sa région externe colorée ; au

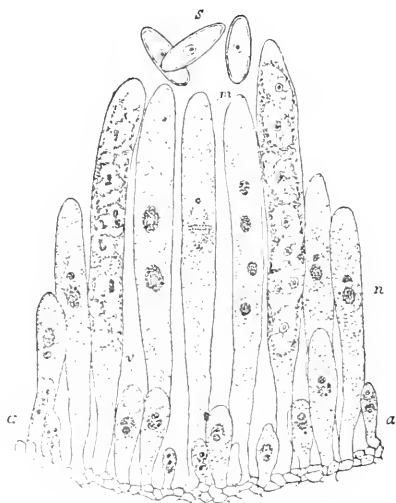


FIG. 10. — *Endocarpon miniatum* Ach. Portion de perithèce avec les asques ; s, spores ; o, papilles avec deux noyaux ; m, asques plus âgés. Diverses phases de la division du noyau.

Réduction : $\frac{1}{3}$

centre du protoplasma clair, se trouve le noyau nucléolé qui est revenu à sa grosseur et à sa structure normales.

En résumé, outre la fusion des noyaux dans la jeune papille, l'intérêt offert par cette espèce réside dans la façon dont se comporte le nucléole pendant la division : nous ne nous expliquons pas jusqu'ici ces différences, il est vrai ; nous devons les signaler quand même : elles peuvent préparer les généralisations.

Perisporiaceæ.

Dans ce groupe, l'étude de la cellule est bien peu avancée: Schmitz (1) a vu un seul noyau dans chaque cellule du mycélium, dans les basides et dans les conidies chez l'*Erysiphe communis*, alors que le *Penicillium glaucum* en possède un ou plusieurs; Strasburger a représenté la disposition des noyaux dans l'appareil conidien du *Penicillium crustaceum* (2); avant de songer à étudier la fécondation dans ce groupe, il était bon de suivre, au point de vue histologique, une espèce dans tout son développement.

Aspergillus glaucus De Bary.

Cette espèce, très commune, se cultive très facilement dans les tubes de gélatine destinés aux études bactériologiques; une fois introduite dans un laboratoire, il est même difficile de s'en débarrasser; elle pénètre à travers les tampons d'ouate et envahit les cultures: elle ne tarde pas à former dans ce milieu de nombreux périthèces.

Nous étudierons successivement le système végétatif, l'appareil conidien, les périthèces.

Le système végétatif est formé par des tubes cloisonnés qui rampent à la surface du milieu nutritif en se ramifiant au moyen de dichotomies irrégulières; chaque article est souvent très long, et renferme alors de vingt à trente noyaux; d'autres n'en possèdent que sept ou huit; ceux qui occupent les extrémités en voie de croissance peuvent n'en avoir que trois ou quatre; ces noyaux sont nucléolés et sont séparés du protoplasma par une membrane à

(1) Schmitz. Untersuchungen über die Structur des Protoplasmas und der Zellkerne in Pflanzenzellen (*Verhandl. des naturh. Vereins der preussich. Rhein lande und Westfalens*, 1880).

(2) Strasburger. *Das Botanische Practicum*, 2^e édition, fig. 148.

double contour; leur grosseur reste sensiblement la même pendant tout le développement, sauf dans les asques.

L'appareil conidien se développe sur ce système de filaments nourriciers; il est constitué par de gros filaments qui se dressent verticalement et se renflent en tête au sommet; une cloison se trouve vers la base; la sphère terminale est couverte de stérigmates qui portent chacun un chapelet de spores.

Au début, le filament conidien est claviforme; son protoplasma est dense: il est sensible aux réactifs colorants, ce qui gêne dans l'observation des noyaux: ceux-ci sont souvent en nombre considérable: plusieurs centaines. La sphère terminale se produit et les noyaux s'y accumulent; ceux qui occupent la couche superficielle passent un à un dans chaque stérigmate par les ponctuations ménagées dans la membrane; le stérigmate s'allonge, le noyau se porte vers le tiers supérieur et une cloison isole la spore avec son noyau; une nouvelle spore se forme sous la première de la même façon, et le nombre des spores de chaque chapelet est égal au nombre de noyaux qui ont passé de la sphère dans le stérigmate; le nombre total des spores est sensiblement égal au nombre des noyaux contenus primitivement dans la sphère terminale et son filament-support; il en reste cependant quelques-uns qui n'arrivent pas à pénétrer dans les stérigmates.

Par suite même de son mode de formation, chaque spore ne possède qu'un noyau: il est situé au centre de la cellule, au milieu d'un protoplasma homogène; la membrane des spores les plus âgées est double; l'exospore est colorée en brun et légèrement échinulée; l'endospore est incolore.

Nous allons maintenant examiner les modifications que peut présenter l'appareil conidien.

1° Le filament ne se renfle point à son extrémité: celle-ci est simplement arrondie; les stérigmates, qui

fonctionnent d'ailleurs normalement, sont alors peu nombreux.

2° Le filament fructifère non seulement n'est pas renflé, mais son extrémité n'est même pas arrondie comme dans le cas précédent, elle est bi ou trifurquée et chaque rameau représente un chapelet de conidies; ce cas rappelle tout à fait ceux qui ont été figurés par Zopf pour le *Sterigmatocystis sulfureus* (1).

3° Il peut arriver que la formation des conidies étant épuisée, certains stérigmates n'ayant plus qu'un noyau s'allongent sans former de cloisons: ils ont alors l'aspect de rameaux; leur membrane s'épaissit, se colore en brun et le noyau unique occupe l'extrémité terminale.

La formation des périthèces a été étudiée avec beaucoup de soin par de Bary dans cette espèce; on sait qu'il a voulu interpréter au profit de sa théorie de la reproduction sexuelle les premiers développements du périthèce. Van Tieghem a démontré l'inexactitude de cette conception (2).

On sait, d'après ce qui précède, à quel point de vue nous nous sommes placé en reprenant cette étude: nous n'ajouterons rien à ce qui est connu du développement; mais nous indiquerons les particularités de structure intime des cellules du périthèce et leur signification.

Le périthèce débute par l'enroulement en spirale d'une extrémité de filament mycélien; au moment où se produisent ces formations, l'ensemble du mycélium est beaucoup plus pauvre en noyaux qu'au moment des productions conidiales.

Van Tieghem a bien résumé le développement du périthèce; nous suivrons de près sa description en y ajoutant les détails relatifs aux noyaux.

(1) Zopf. Die Pilze (*Haudbuch der Botanik von Schenk*, Breslau, 1890, fig. 29).

(2) Van Tieghem. Sur le développement de quelques Ascomycètes (*Bulletin Société Botanique de France*, t. XXIV, 1877, p. 96-104).

La branche enroulée en spirale produit des rameaux; elle est cloisonnée dans ses tours extérieurs, et chaque article contient de cinq à dix noyaux; c'est le tour de spire extérieur qui commence à produire des rameaux: j'ai compté dans ces ramuscules de deux à six noyaux: ces rameaux se portent sur toute la surface du carpogone, s'enchevêtrent, se divisent, formant finalement une couche de pseudo-parenchyme dont la plupart des cellules ne renferment que deux ou trois noyaux: la ramification se continue alors vers l'intérieur, formant un tissu de remplissage dont l'épaisseur varie avec les individus; là également nous trouvons deux ou trois noyaux dans chaque cellule.

En résumé, un tour de spire ou deux, les plus extérieurs, produisent des ramifications nombreuses qui s'enchevêtrent et se cloisonnent formant une épaisseur variable de pseudo-parenchyme: il y a réduction du nombre des noyaux dans chaque cellule.

Le tissu de remplissage est un tissu nutritif dans lequel les tours de spires supérieurs se ramifient à leur tour, donnant naissance à de nombreuses vésicules qui sont les asques.

Si je ne me trompe, ces vésicules ont bien au début deux noyaux comme les jeunes oospores d'*Exoascus*: on comprendra facilement que la question n'est pas facile à résoudre. Je dirai comment j'ai procédé, ce que j'ai vu, et chacun sera libre d'y voir oui ou non une certitude.

Les périthèces colorés à l'hématoxyline étaient écrasés sous la lamelle lorsqu'ils semblaient être à l'état voulu de fructification: de cette façon, j'avais des asques à tous les états de développement; j'étais guidé dans la recherche des asques les plus jeunes par mes études antérieures: ils sont encore peu riches en protoplasma, et invariablement je trouvai deux noyaux ayant la structure de ceux qui se rencontrent dans le système végétatif et même dia-

mètre : ils étaient fréquemment situés à côté l'un de l'autre : je n'ai pas vu la fusion. Cette fusion se fait cependant, car d'autres asques, ceux-là avec un protoplasma abondant, sensible aux réactifs, ne renfermaient qu'un noyau ; ce noyau était central, et sa grosseur ne permettait pas de le confondre avec les précédents ; à n'en pas douter, c'est bien un noyau sexuel ; ce noyau se divise en deux, mais l'asque à ce moment ne peut être confondu, à cause de sa grosseur et de la différence du contenu, avec le stade oospore ; à la troisième bipartition, les spores se forment dans l'asque.

Ces spores remplissent complètement l'asque ; il ne reste pas d'épiplasma ; chacune d'elles s'entoure d'une membrane incolore épaisse, à stries concentriques ; elles ont, comme on le sait, la forme de lentilles biconvexes dont les faces se cutinisent ; nous avons pu nous assurer qu'elles contiennent deux noyaux ; ces spores ont la valeur d'embryons tels que nous les avons définis.

Ajoutons que les cellules du tissu nutritif disparaissent pendant la formation des asques ; seule l'assise externe, à cellules devenues très grandes, persiste ; ces cellules corticales dont le protoplasma se raréfie de plus en plus, montrent encore longtemps de deux à six noyaux, sous forme de petites taches chromatiques.

Nous sommes autorisé à dire que la reproduction sexuelle chez les Périssporiacées, dans ses caractères généraux, se fait comme chez les autres Ascomycètes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Les auteurs qui se sont occupés des Ascomycètes ont eu en vue surtout le noyau de l'asque : c'est ainsi que Sadebeck a décrit une division indirecte dans les *Exoas-*

cus (1), elle se produit également dans l'*Ascomyces endogenus* d'après Fisch (2), Gjurasin a indiqué comment se font les bipartitions successives du noyau dans l'asque de la *Peziza vesiculosa* (3).

Pour le reste, on sait seulement d'après Schmitz que dans la *Peziza convexula*, les cellules du mycelium et aussi les cellules stériles du périthèce renferment plusieurs noyaux ; il n'y en a qu'un dans l'*Erysiphe communis* qu'il s'agisse d'une conidie, d'une cellule du mycélium ou d'une baside ; il en existe une ou plusieurs dans le mycélium du *Penicillium glaucum*, ainsi que dans les cellules du sclérote mûr de *Claviceps purpurea* (4).

Nous allons examiner successivement la *dispersion des noyaux* chez les Ascomycètes, la *formation des oospores*, leur *germination*, et nous terminerons par quelques conclusions générales.

La *dispersion des noyaux* dans les Ascomycètes est très variable dans les diverses familles et groupes.

Prenons le cas le plus simple : on ne trouve qu'un noyau par cellule chez les Levures (5) ; lorsque ces cellules s'allongent en filaments mycéliens sous l'influence de milieux nutritifs particuliers, elles ne renferment également qu'un noyau ; cette dernière observation a été faite dans notre laboratoire par M. Augry qui a bien voulu nous autoriser à la signaler. Il est remarquable d'un autre côté que les champignons ascomycètes des Lichens ne possèdent en général qu'un noyau dans

(1) Sadebeck. Ueber die im Ascus der *Exoascen* stattfindende Entwicklung der Inhaltmassen (*Botanisches Centralblatt*, Bd. xlv).—Die parasitischen Exoascen (*Jahrbuch der Hamburger Wiss. Anstalten*, Bd. x, Hamburg, 1893, n° 2).

(2) Fisch. Ueber die Pilzgattung *Ascomyces* (*Bot. Zeitung*, 1885, p. 33.

(3) Gjurasin. *Loc. cit.*

(4) Schmitz. *Loc. cit.*, p. 194-195.

(5) P.-A. Dangeard. *Loc. cit.*

leurs cellules(1) caractère qu'ils partagent avec l'*Erysiphe communis*.

L'*Exoascus deformans* possède normalement deux noyaux par cellule : il sera intéressant de chercher si toutes les espèces du groupe des Exoascées possèdent cette structure.

Chez les Discomycètes, le nombre des noyaux par cellule augmente : nous le voyons atteindre le chiffre de dix à vingt par cellule (*Acetabula Calyx* ?) ; en général, il est cependant beaucoup moins élevé et varie de deux à six environ (*Peziza*, *Helvella*, *Morchella*, etc.)

Il en est de même dans le *Penicillium glaucum*, alors qu'une espèce voisine, l'*Aspergillus glaucus*, nous en a offert de trois à vingt et même davantage dans les cellules du système végétatif : ce nombre s'élève à plusieurs centaines dans les filaments conidiens.

Il est très remarquable de voir qu'avec ces énormes différences dans le nombre des noyaux du système végétatif, les oospores qui donnent naissance aux asques possèdent toujours deux noyaux.

La formation des oospores est un peu différente selon les genres et les espèces, ainsi qu'on a pu s'en convaincre dans la première partie de ce travail ; mais les caractères généraux restent identiques.

Dans les Exoascées, le mycélium dont les cloisons sont d'abord espacées (2), se fragmente en cellules à deux noyaux qui ont la valeur d'oogones.

L'oogone chez les Discomycètes étudiés : *Peziza*, *Helvella*, *Morchella*, *Acetabula*, etc., repose sur deux filaments mycéliens : cette disposition résulte comme nous l'avons montré d'une courbure du filament fructifère ; il n'est pas impossible également qu'elle soit le résultat dans

(1) P.-A. Dangeard (Comptes rendus. Acad. des Sciences, 23 avril 1894).

(2) Sadebeck. Monographie des Exoascées parasites (*Jahrbuch der Hamburgischen wissenschaft Anstalten*, x. 2).

quelques cas d'une anastomose terminale de deux filaments. Il paraît bien du moins en être ainsi dans les *Eremascus* et les *Dipodascus* ; cependant il faudra vérifier ; Eidam a vu quelquefois l'asque produit par un seul filament, ce qui me conduit à penser que les deux filaments qui supportent ordinairement l'asque pourraient bien avoir la même origine que ceux des Helvelles et être dus à une simple courbure du filament fructifère (1).

Dans les Pyrénomycètes, nous avons vu les oogones prendre naissance sur le stroma sous forme de simples papilles, alors que dans l'*Aspergillus*, ce sont des rameaux provenant de la spire interne.

Quoi qu'il en soit, toujours ces oogones renferment deux noyaux : il y a deux gamètes en présence non séparés préalablement par une cloison, et je ne m'expliquerais pas comment l'absence d'une cloison transitoire comme celle des *Basidiobolus*, enlèverait aux phénomènes qui vont se passer dans l'oogone le caractère d'une véritable fécondation.

Il ne faut pas oublier, en effet, que ces oogones sont le seul organe connu dans les champignons qui nous occupent, où les noyaux soient constamment au nombre de deux : ces noyaux ont une membrane nucléaire et un nucléole ; après leur fusion qui s'opère comme nous l'avons indiquée, l'oospore est formée : elle possède un seul noyau sexuel nucléolé et son protoplasma devient dense, homogène ; il se colore vivement par les réactifs colorants.

Tandis que chez les Urédinées et les Ustilaginées l'œuf formé s'entoure d'une épaisse membrane et passe à l'état de vie latente, ici la germination s'effectue immédiatement.

La germination de l'oospore donne naissance à l'asque,

(1) Consulter les fig. 14, 16, 18, 22 du travail d'Eidam. *Loc. cit.*

c'est-à-dire à une ampoule qui reste généralement en communication avec l'oospore ; quelquefois cependant, elle s'en sépare par une cloison comme dans certaines Exoascées.

L'asque a exactement la valeur d'un promycélium d'Urédinée ou d'Ustilaginée : c'est à son intérieur que le noyau sexuel qui a augmenté de volume à la suite de la fécondation se divise un certain nombre de fois.

Dans les plantes supérieures, comme chez les animaux, c'est dans les stades qui précèdent ou qui suivent la fécondation que les centrosomes apparaissent ou deviennent visibles : c'est également à ce moment que, chez les Ascomycètes, on peut réussir à les voir : coïncidence qui ne peut manquer d'être remarquée.

Le noyau sexuel, après la fécondation, augmente considérablement de volume : sa membrane nucléaire s'épaissit sensiblement et les chromosomes deviennent souvent visibles, alors même qu'ils ne l'étaient pas auparavant ; le gros nucléole subit des modifications profondes ; il se creuse de lacunes ; il est destiné à disparaître après avoir cédé sa substance probablement au profit de la masse nucléaire : cette disparition coïncide à peu près avec le moment où la membrane nucléaire se résorbant pour la première bipartition, le protoplasma communique avec le cytoplasme ; quelquefois, le nucléole persiste quelque temps après que cette communication s'est établie.

C'est à cette période que nous avons vu les centrosomes dans le *Borreria ciliaris* et la *Peziza vesiculosa* ; dans la première espèce, après disparition de la membrane nucléaire, le nucléole perd de sa substance et il prend la forme d'un anneau ; j'ai vu nettement deux centrosomes : ils se trouvaient au *contact immédiat* du nucléole, tantôt réunis en un point, tantôt situés en deux pôles opposés ; nous ignorons quel est leur sort ultérieur ; leur apparition dans *Peziza vesiculosa* se fait plus tôt, presque immé-

diatement après la fécondation : ils sont également au nombre de deux avec les mêmes caractères ; nous avons vu qu'ils semblent prendre naissance aux dépens du noyau ; ils se portent ensuite l'un en avant, l'autre en arrière du noyau, où on les retrouve à des distances variables. Dans l'*Endocarpon miniatum*, c'est le nucléole excentrique qui après avoir perdu une grande partie de sa substance semble jouer le rôle d'un centrosome à l'un des pôles du fuseau nucléaire.

La division du noyau dans l'asque est sujette à de nombreuses variations ; nous n'avons vu la division indirecte d'une manière bien nette que dans l'*Endocarpon* ; les chromosomes, à la première bipartition, sont nettement distincts et la formation de la plaque équatoriale est bien caractéristique ; à la troisième bipartition, une zone de protoplasma clair en réseau se montre autour de chaque noyau ; chaque spore se trouve déjà nettement délimitée de l'épiplasma granuleux ; après la production de la membrane, les spores sont complètes ; les spores renferment selon les genres un (*Endocarpon miniatum*, *Exoascus deformans*, etc.) ou plusieurs noyaux, souvent deux (*Peziza vesiculosa*, *Borrera ciliaris*, *Aspergillus glaucus*, etc.)

Il est facile de se rendre compte de l'analogie étroite qui existe entre l'asque et le promycélium ; ils ont la même origine puisqu'ils tirent naissance d'une oospore ; ils se comportent identiquement pendant la division du noyau sexuel ; c'est à leur intérieur que ce dernier subit plusieurs bipartitions, en général trois. La seule différence, et elle est d'ordre physiologique, consiste en ce que les embryons dans les Ascomycètes restent à l'intérieur de l'asque, du promycélium, si l'on veut, alors que chez les Urédinées et les Ustilaginées, ces embryons deviennent externes, bourgeonnent à la surface du promycélium.

Comme on peut le prévoir, il y a même des passages que

mettra bien en évidence un travail de notre élève, M. Sappin-Trouffy, sur les Urédinées.

L'existence d'une reproduction sexuelle chez les champignons supérieurs est donc maintenant bien établie, même chez les Basidiomycètes, comme je l'ai fait remarquer précédemment (1).

La baside est en effet une oospore dans laquelle le noyau sexuel se divise immédiatement sans former de promycélium : les basides cloisonnées des Protobasidiomycètes (Brefeld) établissent le passage ; l'oospore forme encore dans ce cas un véritable promycélium interne dont chaque cellule fournit ensuite une conidie ; cette disposition se rattache sans transition à celle des téléutospores de *Coleosporium*, dans lesquelles, d'après une observation extrêmement intéressante de Sappin-Trouffy, le cloisonnement est précédé d'une fusion de noyaux.

Loin de notre pensée l'idée d'avoir vu et décrit tout ce qu'il y a d'important sur un sujet aussi vaste ! Mais comme nous le disions au dernier Congrès des sociétés savantes devant des savants éminents, on pourrait certainement appliquer ces méthodes et l'idée aux divers groupes du règne végétal et du règne animal considérés comme dépourvus de sexualité. Quels seront les résultats d'une telle enquête ? Nous l'ignorons : ils ne peuvent être que fructueux cependant : nous avons simplement conscience d'avoir ouvert une « voie de pénétration », à un vaste champ de recherches.

(1) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Champignons (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule, p. 238-239).

NOTA. — Toutes les figures ont été dessinées avec l'oculaire compensateur 6 et l'objectif à immersion homogène, 2,0 MM. de Zeiss.

NOTE SUR UNE ANOMALIE FLORALE

De Tulipa Sylvestris L.

Par **P.-A. DANGEARD** et **BOUGRIER.**

Nous devons à l'obligeance de M. Souché, vice-président de la Société botanique des Deux-Sèvres, d'avoir pu examiner une fleur anormale de *Tulipa sylvestris*.

On a bien, il est vrai, rencontré d'assez nombreuses anomalies chez les Tulipes, mais dans les seules descriptions que nous ayons pu consulter, il s'agissait de fleurs irrégulières ; or l'exemplaire unique que nous avons eu entre les mains présentait ceci de remarquable, qu'il n'y avait aucune sorte d'irrégularité dans la fleur ; seulement celle-ci au lieu d'être construite sur le type ($3 S + 3 P + 3 E + 3 E' + 3 C$) avait pour diagramme ($4 S + 4 P + 4 E + 4 E' + 4 C$) : elle était absolument régulière.

Alors même que cette disposition serait assez fréquente, il est peu probable qu'elle ait été étudiée anatomiquement ; c'est ce qui nous a engagé à rechercher si la régularité existait également dans la structure interne. Voici ce que nous avons pu constater.

La capsule est tétragone, les quatre carpelles sont identiques à ceux des fleurs normales : ils sont tous égaux et de même conformation.

Dans chacun d'eux, il existe un faisceau libéro-ligneux dorsal ou médian et deux faisceaux latéraux : ces derniers se soudent latéralement avec ceux des carpelles adjacents ; il y a en outre d'autres faisceaux plus petits vers les bords du carpelle : ce sont les faisceaux marginaux qui fournissent les filets vasculaires des ovules ; ceux-ci sont disposés en un cercle interne alors que les faisceaux dorsaux et faisceaux latéraux beaucoup plus importants forment un cercle externe.

Si nous descendons progressivement vers le pédicelle floral, nous voyons le système conducteur extérieur se rapprocher du centre ; les faisceaux marginaux rentrent dans les faisceaux latéraux, et il n'existe plus qu'un seul cercle comprenant quatre faisceaux dorsaux entre lesquels se trouvent groupés par deux les huit faisceaux latéraux.

A ce système libéro-ligneux carpellaire, viennent s'ajouter les systèmes conducteurs des autres parties de la fleur : d'abord les huit faisceaux des étamines ; ensuite les huit faisceaux *médians* des pétales et sépales, presque sur le même plan : il en résulte une couronne libéro-ligneuse complète.

Extérieurement à cette couronne, on observe un grand nombre de petits faisceaux qui forment un cercle à quelque distance du premier ; chaque sépale et chaque pétale reçoit en plus du faisceau médian deux faisceaux latéraux ; ce sont ces derniers qui entrent pour une grande part dans la constitution de ce cercle extérieur ; le reste provient de ramifications et d'anastomoses.

Si l'on descend davantage dans l'axe, on voit que dans la couronne libéro-ligneuse interne, les faisceaux reprennent leur indépendance ; il y en a huit qui arrivent à se fusionner latéralement deux par deux à différents niveaux ; en même temps, le nombre des faisceaux du cercle extérieur diminue, alors que quelques-uns d'entre eux se rapprochent graduellement du centre.

Il nous a été impossible de tirer meilleur parti de l'exemplaire unique que nous avons eu à notre disposition.

On peut toutefois conclure de ce qui précède, que la fleur du *Tulipa sylvestris* ayant pour diagramme ($4 S + 4 P + 4 E + 4 E' + 4 C$) était aussi régulière dans sa structure que dans sa morphologie externe : rien n'indiquait un dédoublement de l'une des pièces florales. A notre avis, cette anomalie est du même ordre que les variations du cycle foliaire dans une même espèce.

LA TRUFFE

RECHERCHES SUR SON DÉVELOPPEMENT, SA STRUCTURE, SA REPRODUCTION SEXUELLE

Par P.-A. DANGEARD

La Truffe est un champignon dont le développement tout entier a lieu sous terre : aussi, sa naissance a-t-elle été entourée de tout temps des idées les plus étranges et des hypothèses les plus hasardées : leur répercussion s'est étendue jusqu'à notre époque.

Quelques savants avaient déjà entrevu sa nature fongique, lorsque Vittadini publia à Milan, en 1831, sa monographie des Tubéracées, ouvrage qui, selon les expressions de Tulasne, a révélé en quelque sorte aux botanistes l'existence des champignons hypogés (1).

Tulasne était un bon juge en cette matière, car c'est à lui que nous devons de connaître les Tubéracées et la Truffe en particulier dans leur organisation interne (2) ; c'est ce savant qui a illustré leur histoire naturelle de magnifiques planches dont l'exactitude ne le cède en

(1) Vittadini. *Monographia tuberaceorum*, Mediolani, 4:31.

(2) Tulasne. *Fungi hypogæi*, Paris, 1862.

rien au fini de l'exécution ; son ouvrage a eu un grand retentissement ; ses dessins sont devenus rapidement classiques et ils le sont restés.

Toutes les autres théories relatives à la nature de la Truffe étaient vouées à l'impuissance ; nous ne les rappellerions même pas, si plusieurs d'entre elles n'étaient encore admises fréquemment par ceux qui s'occupent de la recherche et de la culture de la Truffe et aussi par ceux qui les utilisent !

On peut les comprendre sous ces divers titres :

1° Génération de la Truffe par une fermentation de la terre ;

2° Exudation des rameaux et des feuilles ;

3° Excrétion des racines ;

4° Extravasation de la sève des racines à la suite de piqûres de mouches ;

5° Production de véritables galles par la piqûre des mouches ;

6° Renflement tuberculeux et spontané des racines.

Chacune de ces théories a eu ses défenseurs : celle qui admet l'existence d'une « mouche truffigène », a eu un grand retentissement. Cette dernière, soutenue avec habileté par Jacques de Valsèrres, avait rallié beaucoup de partisans et réussi à obscurcir auprès d'un grand nombre les notions vraiment scientifiques.

On trouvera ces théories exposées avec une grande compétence dans le savant livre du professeur Chatin (1) ; on y rencontrera, en même temps, les renseignements les plus complets sur les diverses espèces de Truffes, sur leur composition chimique, leur habitat, leur culture, leur dispersion.

C'est vers 1850-1851, que Tulasne poursuivait dans la

(1) Ad. Chatin. *La Truffe*, 1892, Paris.

Vienne ses observations sur les Tubéracées ; depuis cette époque, la science a progressé ; de nouvelles méthodes ont permis de pénétrer plus avant dans la structure intime des végétaux ; des découvertes se sont produites qui en ont entraîné d'autres. Les résultats que nous publions aujourd'hui, ont eu pour principe l'idée de rechercher chez la Truffe la reproduction sexuelle que nous avons signalée chez d'autres Ascomycètes (1). Cette étude a eu pour champ d'investigation la région même parcourue par Tulasne, ce que nous considérons comme une heureuse coïncidence.

I. — Origine de la truffe ; ses relations avec les racines.

Les truffières ne sont pas rares dans la Vienne, en particulier aux environs de Chauvigny, de Loudun et de Civray ; on les reconnaît facilement à l'aspect dénudé du terrain où elles se rencontrent, aspect entretenu d'une année à l'autre par les façons culturales dont elles sont ordinairement l'objet de la part de ceux qui les exploitent. Elles forment des taches visibles de loin, grâce à l'absence de végétation.

Ces truffières sont toujours situées au voisinage immédiat d'arbres appartenant aux Cupulifères, aux Conifères et aux Amentacées ; en général, c'est autour des chênes qu'elles se développent ; leur existence, comme on le verra plus loin, est intimement liée à celle de ces arbres ; c'est environ vers la sixième ou la septième année que le chêne commence à produire, et la production peut durer fort longtemps, puisqu'on observe des chênes séculaires qui sont encore truffiers : cette production n'est pas

(1) P. A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Ascomycètes. (*Le Botaniste*, 4^e Série. 1^{er} et 2^e fascicules, juillet 1894.)

uniforme ; il se produit des périodes de repos suivies de nouvelles périodes d'activité.

Il est bon, lorsqu'on veut étudier l'origine de la Truffe, de pouvoir compter sur l'aide d'un truffier de profession qui vous conduise et vous guide : autrement, on s'exposerait à des désagréments, car la protection des truffières entretenues est, avec juste raison, protégée par la loi. Nous n'avons eu qu'à nous louer, en la circonstance, de M. Bussard, de Bonnes, qui joint une obligeance parfaite à une grande expérience.

Les truffières de rapport sont en général cultivées : ceux qui les possèdent ou les louent, ameublissent superficiellement la terre, en ayant soin de ne pas détruire les radicelles du chêne, aux dépens desquelles se font les premiers développements de la Truffe.

Lorsqu'on examine les racines du chêne d'une truffière, on s'aperçoit qu'elles sont ramifiées abondamment ; les ramifications très courtes sont réunies en glomérules, elles rappellent un peu les racines coralloïdes des *Cycas* ; leur surface est dépourvue de poils absorbants et recouverte entièrement par un feutrage, difficile à apercevoir sans l'aide d'une bonne loupe ; autour de ces radicelles, circulent de longs cordons qui s'anastomosent et se ramifient ; les uns sont colorés en brun, les autres sont incolores. Le feutrage qui recouvre les racines, est en communication directe avec ces cordons mycéliens qui ont reçu le nom de rhizomorphes.

L'existence du revêtement mycélien qui entoure les racines du chêne, explique pourquoi la présence de cet arbre est nécessaire au développement de la Truffe ; c'est aux racines que le champignon emprunte principalement les réserves nutritives qui serviront à la formation du tubercule ; les rhizomorphes lui permettent d'étendre au loin son champ d'action ; en même temps, ils lui fournissent les moyens d'amener rapidement au point où la Truffe

se produira, les matériaux puisés dans le cercle environnant.

Quelques auteurs admettent avec Frank (1) que le champignon qui entoure les racines, n'est pas un simple parasite (2) ; il y aurait, entre les deux êtres en présence, association à bénéfice réciproque, autrement dit, symbiose ; les racines, ainsi modifiées, sont des mycorhizes : la racine alors assimile par l'intermédiaire du champignon qui remplace les poils absorbants et s'attaque aux feuilles et aux débris végétaux divers pour les rendre assimilables.

Je n'ai aucune raison pour mettre en doute ces résultats : ils sont très vraisemblables ; cependant il est bon de rappeler que cette théorie de la nutrition en commun a rencontré des adversaires au nombre desquels il faut citer Hartig (3).

Quoi qu'il en soit, le champignon ne laisse pas ses services impayés, puisqu'il réussit à amasser de la sorte les matériaux nutritifs nécessaires à la formation de son appareil reproducteur.

Nous avons dit qu'il y avait, dans les premiers développements de la Truffe, deux choses à considérer : le revêtement mycélien des racines et les rhizomorphes qui circulent autour de ces racines dans le sol de la truffière.

Le revêtement mycélien s'observe facilement sur une section transversale des fines radicelles : le champignon y forme superficiellement une couche de pseudo-parenchyme, duquel se détachent des filaments cloisonnés, simples ou ramifiés, simulant des poils absorbants, ou

(1) Frank. *Lehrbuch der Botanik*, Leipzig, 1892, p. 260-261.

(2) P. Vuillemin. Les mycorhizes (*Revue générale des sciences pures et appliquées*, t. I, 1890).

(3) Hartig. *Botanisches Centralblatt*, 1886, et *Centralblatt für Bakteriologie*, 1888.

bien des faisceaux plus ou moins gros de filaments semblables ; ces derniers peuvent se continuer directement avec les rhizomorphes dont ils partagent la structure ; vers l'intérieur de la racine, les filaments mycéliens péné-

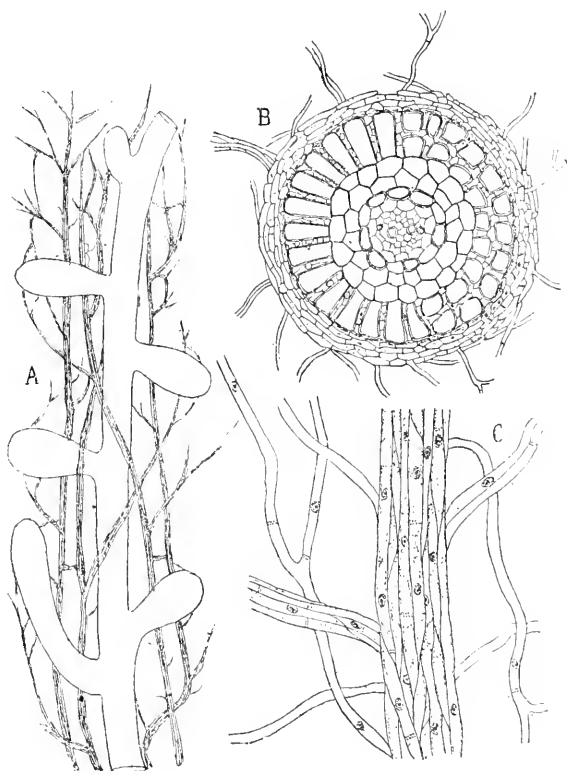


FIG. 1. — *A*, Jeune racine de chêne avec ses ramifications et les rhizomorphes qui circulent autour d'elles ; *B*, Section transversale d'une des radicelles avec son revêtement mycélien ; *C*, Portion de rhizomorphes montrant la présence des noyaux dans les tubes et la structure criblée des cloisons.

trent entre les cellules de l'écorce et les entourent sans y pénétrer ; ils s'arrêtent brusquement avant d'atteindre le cylindre central dont ils restent séparés par l'endoderme et deux assises corticales (fig. 1, *B*) : les cellules de

pseudo-parenchyme ne renferment qu'un protoplasma aqueux ; mais il y existe des noyaux.

Les rhizomorphes existent en grand nombre au voisinage des racines (fig. 1, A) : ces cordons sont ramifiés en fausse dichotomie ; ils s'anastomosent fréquemment entre eux de la manière la plus irrégulière ; ces rhizomorphes sont tous constitués par des tubes mycéliens cloisonnés de loin en loin et assemblés en faisceaux ; le nombre des tubes ainsi réunis est excessivement variable, et c'est c qui détermine le diamètre différent des rhizomorphes de leur surface, se détachent fréquemment des filaments, simples ou ramifiés, très allongés, qui paraissent remplir l'office de poils absorbants.

La constitution intime des rhizomorphes n'ayant jamais été établie, du moins à ma connaissance, j'ai dû la rechercher : il faut considérer séparément les rhizomorphes incolores et les rhizomorphes colorés.

Les premiers, traités par les méthodes ordinaires, laissent voir, dans chaque filament, un ou plusieurs noyaux ; à cause de la longueur des articles, il est souvent impossible de déterminer exactement leur nombre ; ces noyaux sont formés par des granulations de chromatine et un petit nucléole difficilement perceptible ; le protoplasma des cellules est aqueux et, çà et là seulement, se trouvent des amas de granulations ; cet état est éminemment favorable à la circulation des liquides et au rôle que ces rhizomorphes ont à remplir ; la disposition espacée des cloisons concourt également à ce but. Il est plus difficile d'interpréter la structure exacte de ces cloisons : de chaque côté de la ligne incolore qui forme cette cloison, on observe souvent une série de petits granules espacés régulièrement : ces granules se colorent fortement par l'hématoxyline : ils correspondent, selon nous, aux cals des tubes criblés chez les plantes vasculaires. On ne peut manquer d'être frappé de la ressemblance complète que ces cloisons pré-

sentent avec celles des tubes criblés de *Salvinia natans*, tels que les a figurés Poirault tout récemment (1). Nous avons observé cette structure des cloisons chez un grand nombre d'espèces de champignons: elle se voit facilement dans la couche sous-hyméniale des Pézizées; dans les rhizomorphes de *Tuber*, elle est très nette. Nous n'avons pas vu jusqu'ici, dans la cloison, de perforations en correspondance avec les cals; mais nous savons que ces perforations sont très difficiles à mettre en évidence dans des tubes criblés dont le diamètre est bien supérieur à celui des tubes mycéliens: leur existence même est contestée pour un certain nombre de plantes vasculaires.

On peut admettre, je pense, que les filaments des rhizomorphes ont un rôle tout à la fois conducteur et absorbant; leurs cloisons ont une structure identique à celle des tubes criblés chez les plantes vasculaires: elles sont organisées en vue du transport des liquides nourriciers.

Les rhizomorphes bruns diffèrent des précédents par l'épaisseur de leur membrane; ils ne présentent pas trace d'activité. Nous n'avons pu déceler à leur intérieur ni noyau, ni protoplasma: la coloration propre des membranes est jaunâtre, ils sont mélangés aux précédents dont ils partagent les autres caractères morphologiques. La même différence de structure existe entre les filaments simples: les uns ont une membrane incolore ou faiblement colorée: ils possèdent des noyaux; les autres prennent une coloration jaunâtre et ils sont dépourvus de noyaux; ces derniers sont des organes morts.

Tulasne, qui a observé le premier le mycélium de la Truffe, rapporte ainsi son observation (2):

« Le 6 septembre 1850, M. Voyer d'Argenson nous ayant

(1) G. Poirault. Recherches sur les Cryptogames vasculaires (*Annales des sc. naturelles. Bot. T. XVIII, 7^e Série, 1893, p. 192*).

(2) Tulasne. *Loc. cit.*, p. 59.

obligeamment conduit dans un endroit de son vaste parc des Ormes-Saint-Martin (Vienne), où chaque année, en novembre et décembre, se recueillent des truffes abondantes, nous y trouvâmes au bout de peu d'instantes plusieurs de ces champignons encore enveloppés de *mycelium*. Cette observation fut faite en présence de M. l'abbé S. de Lacroix, dont les herborisations ont tant contribué à enrichir la *Flore de la Vienne*, et nous la renouvelâmes plus tard (le 24 septembre) dans une truffière du canton de Vouillé qui nous fut indiquée par M. Delastre, pendant que nous étions ses hôtes au château de la Cour.

Le sol argilo-calcaire et rougeâtre de ces truffières renfermait, dans le gisement même des truffes, de nombreux filets blancs, cylindriques, bien plus ténus qu'un fil à coudre ordinaire et qui n'adhéraient aux particules terreuses que par les extrémités déliées de leurs rameaux, lesquelles finissaient par se confondre avec un *mycelium* byssoïde moins apparent. L'examen microscopique de ces filets ou cordelettes (de couleur jaune vert) nous les a montrés composés de filaments cylindriques et cloisonnés, droits, parallèles entre eux et d'un diamètre uniforme d'environ 3 à 5 μ . Ces éléments sont aussi ceux du *mycelium* dans son état diffus, mais ils y sont moins rectilignes et plus rameux... Les jeunes truffes sont de toutes parts enveloppées d'un feutre parfaitement blanc, très dense, de un à trois millimètres d'épaisseur, et dont les fils constitutifs, semblables à ceux que nous venons de décrire, se prolongent et s'étendent çà et là autour du champignon sous la forme de filets déliés ou celle de flocons mal définis... Les truffes ainsi revêtues de *mycelium* ne dépassaient guère le volume d'une noix ; leur pulpe à toutes était encore blanchâtre, et les spores commençaient à peine à s'y montrer dans les sporanges. Quant aux rapports anatomiques du *mycelium* avec la surface du champi-

gnon, ils sont tels que les filaments qui composent le premier, sont tous implantés sur l'écorce de la Truffe, et qu'ils en procèdent, de manière que, sous une loupe de cinq lignes de foyer, il n'est pas toujours facile de découvrir nettement où le *peridium* se sépare de son enveloppe byssoïde. »

Malgré ces observations précises, le Dr de Ferry et Grimblot ont admis, assez récemment, que le seul mycélium de la Truffe était brun, le mycélium blanc restant étranger à la production truffière (1).

Un pharmacien d'Angoulême, Condamy, a vu juste, lorsqu'il a décrit, avec un soin minutieux, deux sortes de mycélium, l'un blanc, l'autre brun (2) ; mais il va trop loin, lorsqu'il veut établir sur ces différences une action sexuelle.

En présence de ces divergences, Chatin, qui a lui-même observé en compagnie des professeurs Guitteau, Malapert et Poirault, un mycélium blanc dans les truffières des environs de Poitiers, se demande si cette couleur ne change point avec l'âge comme celle de la Truffe elle-même (3).

Les observations qui précèdent fournissent la réponse à cette question; nous avons vu que les rhizomorphes incolores sont des organes jeunes, formés par de longues cellules nucléées, à paroi mince, à cloisons criblées pour la plupart ; ils sont accompagnés de filaments simples ayant même constitution. Les rhizomorphes colorés sont arrivés à un âge plus avancé ; les membranes sont épaissies, les noyaux ont disparu ; on observe entre ces deux états un grand nombre de transitions.

(1) Dr C. de Ferry de la Bellone. *La Truffe*, J.-B. Baillière et fils, Paris, 1888, p. 21-22.

(2) A. Condamy. *Etude sur l'histoire naturelle de la Truffe* (Angoulême, 1876).

(3) Chatin. *Loc. cit.*, p. 42.

Le revêtement mycélien des racines et les rhizomorphes représentent, pour la Truffe, ce que le « blanc de champignon » est, à la connaissance de tous, pour l'Agaric de couche : le stade de nutrition est suivi, tôt ou tard, de la formation d'un appareil reproducteur.

Tulasne a constaté le premier les relations directes qui existent entre les rhizomorphes des truffières et le tissu de la Truffe. Mattirola a poussé l'observation plus loin (1); il a mis hors de doute la continuité avec le revêtement mycélien des racines, ce que laissaient d'ailleurs supposer les recherches de Frank (2), Gibelli (3), Ferry de la Bellone (4), Müller (5).

La Truffe passe donc la première partie de son existence sur les racines d'essences diverses et en particulier du chêne ; les différents points de sa zone d'action sont reliés entre eux par des cordons mycéliens ou rhizomorphes ; c'est sur ces derniers organes que se développe l'appareil reproducteur, qui n'est autre chose que le tubercule lui-même ; nous allons maintenant en étudier l'organisation et la structure.

II. — Structure générale de la Truffe.

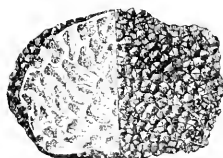


FIG. 2. — Truffe sectionnée partiellement pour montrer le tissu fructifère.

La Truffe est entourée d'une écorce résistante qui a reçu le nom de péri-dium ; dans le *Tuber melanospermum*, ce péri-dium est relevé de « ver-rues polygonales, à six pans mar-qués de cannelures longitudinales et d'une dépression au sommet »

(1) Mattirola. *Archives italiennes de Biologie*, 1883.

(2) Frank. *Leunis Synopsis der Pflanzenkunde*.

(3) Gibelli. La malattia del Castagno (*Memorie de l'Acad. di Bologna*, 1884).

(4) Ferry de la Bellone. *Loc. cit.*

(5) P.-E. Müller. *Bot. Centralblatt*. 1886.

(fig. 2) : ces verrues se montrent de bonne heure dans le développement.

Le tissu de la Truffe situé sous le péridium comprend (fig. 3) :

1° Des veines aérifères *L*, qui serpentent irrégulièrement dans la masse et viennent affleurer, après avoir traversé

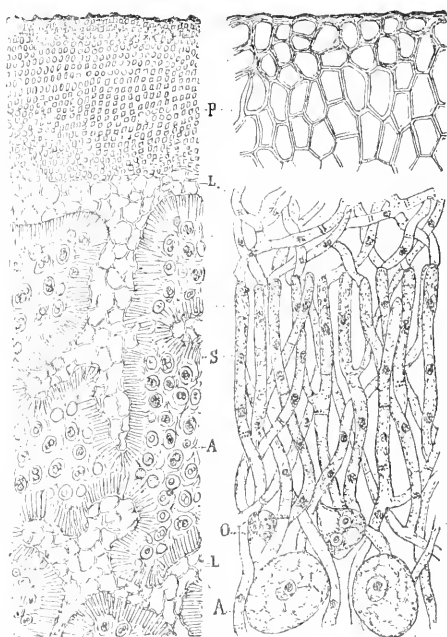


FIG. 3. — Section de Truffe à deux grossissements différents : *P*, Péridium ;
L, Veines aérifères ; *S*, Septa ; *A*, Asques ; *O*, Oospores.

l'écorce, au niveau des pans ou au sommet crevassé des verrues ;

2° Des veines fructifères *A*, renfermant les asques, organes de la fructification.

Des septa *S* séparent les deux systèmes ; ils sont formés par des filaments parallèles qui sont perpendiculaires aux veines aérifères : Tulasne les assimile à des paraphyses.

L'examen histologique est surtout profitable au moment

où la chair est encore blanche ou presque blanche ; plus tard, le tissu devient marbré, les veines fructifères, chargées de spores mûres, se dessinent en noir, alors que les veines aérifères restent incolores ; certaines espèces offrent, en outre, un ensemble de lames colorées parallèles aux veines aérifères : elles continuent la substance corticale à l'intérieur de la truffe en parcourant la partie moyenne des veines fructifères.

Les cellules qui composent le péridium, sont étroitement unies en pseudo-parenchyme (fig. 3, *P*) ; elles ont une très épaisse membrane colorée en jaune brun dans la partie voisine de la surface ; leur section est polygonale. En se rapprochant du centre, elles affectent une forme plus allongée, plus irrégulière, prenant peu à peu les caractères de filaments mycéliens, tout en restant unies en tissu compact ; lorsqu'elles sont jeunes, elles renferment un protoplasma granuleux au milieu duquel on distingue un ou plusieurs noyaux.

On peut se représenter les veines aérifères comme des cavités à l'intérieur desquelles existe un réseau lâche de filaments mycéliens ; les mailles du réseau contiennent de l'air ; les filaments renferment du protoplasma et des noyaux (fig. 3, *L*).

La limite des veines aérifères et des septa est très nette ; les filaments sont plongés dans une masse gélatineuse continue ; ils sont parallèles ; leurs cloisons, espacées de loin en loin, sont criblées pour la plupart comme celles des rhizomorphes : ils ressemblent aux cellules qui constituent ces derniers ; mais leur protoplasma est plus dense, plus granuleux ; les réactifs le colorent davantage ; certains articles possèdent cinq ou six noyaux qui ne se distinguent guère, dans le tube mycélien, que sous l'apparence de simples taches chromatiques. Il est bien difficile de dire si la présence d'un tout petit nucléole y est constante, bien que la chose soit probable (fig. 3, *S*).

En arrivant aux veines fructifères, le tissu mycélien devient beaucoup plus lâche ; les filaments n'ont plus une direction déterminée ; ils conservent leur structure un certain temps ; peu à peu, au fur et à mesure que les corps reproducteurs se forment au milieu d'eux, leur protoplasma et leurs noyaux disparaissent.

Il nous reste à examiner comment les semences ou « embryons », comme on voudra les appeler, naissent dans les veines fructifères.

III. — La reproduction sexuelle chez la Truffe ; naissance des asques ; formation et structure des spores.

Les corps reproducteurs naissent, dans la Truffe, comme chez les autres ascomycètes, à l'intérieur de conceptacles qui ont reçu le nom d'asques ; ces corps reproducteurs ou « embryons » sont souvent désignés du terme général de spores ; ils sont le résultat d'une fécondation analogue à celle que nous avons décrite dans les champignons du même groupe ; il est inutile de la rechercher sur des échantillons âgés.

Ce n'est pas sans grande difficulté que nous avons réussi, pendant les mois de novembre et décembre 1894, à obtenir quelques jeunes Truffes ; la plupart étaient encore trop avancées pour l'étude de la reproduction sexuelle : la naissance des asques ne peut être observée avec fruit que sur les truffettes dont la chair est blanche et laisse à peine entrevoir un commencement de marbrure.

Cette recherche doit être facile sur de très jeunes échantillons : ceux dont nous disposions étaient sensiblement trop âgés ; ils renfermaient tous un grand nombre d'asques déjà formés et ce n'est qu'exceptionnel-

lement que nous avons pu trouver, réunis dans un petit espace, un certain nombre d'oospores (fig. 4).

Ces oospores doivent être cherchées de préférence à la limite des septa, dans les veines fructifères; elles seraient passées inaperçues dans nos préparations, si nous n'avions été familiarisé avec leur aspect chez les autres ascomycètes.

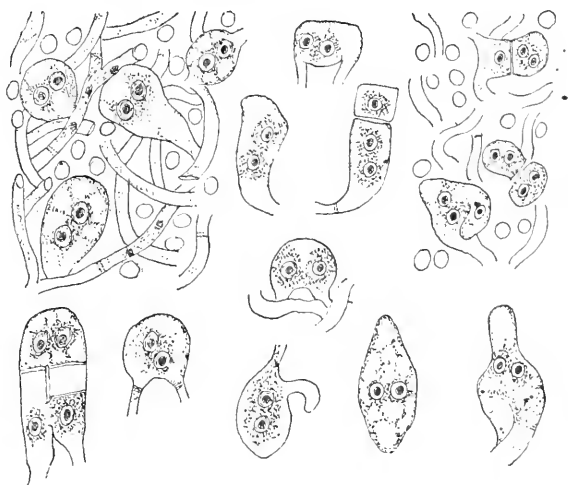


FIG. 4. — Divers aspects des oospores : chacune d'elles renferme deux noyaux nucléolés, accompagnés de leur protoplasma. (Grossissement 800.)

Elles rappellent beaucoup les oospores des Pézizes (1); même forme, même grosseur, même disposition des noyaux; comme chez les Pézizes, elles paraissent fréquemment dues au concours de deux filaments différents (fig. 4); mais nous savons que, chez ces derniers champignons, l'apparence est le résultat d'une courbure du filament fructifère.

Il est très remarquable de voir quelle grande différence les noyaux des oospores présentent avec ceux des

(1) P.-A. Dangeard. *Loc. cit.*, p. 38, fig. 6

filaments mycéliens ordinaires : ces derniers ont l'apparence de simples taches chromatiques ; les noyaux des oospores sont nettement circonscrits, leur nucléole est gros, dense, sphérique ; il se colore fortement par les réactifs ; le protoplasma même qui les entoure, est différent de celui du tissu stérile ; il est plus homogène, il est plus sensible aux réactifs, et fréquemment on distingue, dans l'oospore, celui qui est propre à chacun des noyaux (fig. 4).

Comme chez les Pézizes, ces oospores sont le siège de la fécondation : elles renferment deux noyaux, entourés chacun de leur protoplasma : les deux noyaux s'unissent en un seul ; en même temps les protoplasmes se mélangent intimement. Cette fusion des noyaux et des protoplasmes caractérise la fécondation à tous les degrés du règne végétal et du règne animal ; ici, elle est débarrassée de tous les appareils accessoires qui l'accompagnent habituellement.

La formation des spores à l'intérieur de l'asque avait fait supposer, depuis longtemps, que ces conceptacles étaient des organes femelles.

Hofmeister attribuait à la Truffe une reproduction sexuelle analogue à celle des Saprologniées (1) ; des filaments ténus, analogues à des anthéridies, s'appliqueraient sur les asques, organes qui, dans cette hypothèse, seraient de véritables oogones ; l'observation n'a pas justifié cette manière de voir qui a dû être abandonnée.

Dans son exposé de la fécondation chez les Cryptogames, Léon Vaillant exprime ainsi sa pensée : « On peut dire que les appareils à spores endothèques, lorsqu'ils existent, sont de tous les organes ceux qui rappellent le plus les organes femelles, mais ce n'est qu'une simple

(1) Hofmeister, *Jahrb. f. wis. Bot.*, II, p. 378.

analogie. Quant aux organes mâles, ils paraissent complètement inconnus (1).

Bonnet croit aussi à une fécondation s'opérant dans l'asque: « Les spores endothèques, dit-il, atteignent dans la cellule mère leur état de perfection; or, cette cellule étant dépourvue d'ouverture, il y a tout lieu de croire qu'elles sont fécondées par le liquide au milieu duquel elles sont suspendues, puisqu'elles en sortent pourvues de la faculté de germer (2) »; cet auteur ne fait qu'interpréter une phrase de Tulasne: « Les endospores, dès leur apparition, nagent dans un liquide fécondant, au sein duquel elles arrivent à leur état de perfection, bien qu'il n'existe jamais, cependant, la moindre adhésion entre elles et l'utricule mère » (3).

Ces opinions n'ont plus qu'un intérêt historique, puisque nous avons établi sur des bases solides l'existence d'une reproduction sexuelle chez les Ascomycètes: en les rappelant, notre but est de dissiper les dernières hésitations. Lorsque des auteurs sont arrivés, sans aucune observation précise, d'après le seul raisonnement, à soupçonner l'endroit du développement où se produit la reproduction sexuelle, il paraît juste d'accueillir avec faveur la découverte, au même lieu, des phénomènes qui caractérisent la fécondation.

Chez les Ustilaginées, les oospores, après la fécondation, commencent une période de repos pendant laquelle elles sont protégées par une épaisse et double membrane; dans la Truffe, leur germination est immédiate comme chez les Pézizes; aussitôt après la fécondation, le noyau sexuel augmente considérablement de volume et l'oospore se développe en un sac qui est l'asque ou conceptacle (fig. 5, B); ce dernier renferme un protoplasma à larges

(1) Léon Vaillant. *De la fécondation dans les cryptogames*, 1863, p. 61.

(2) H. Bonnet. *La Truffe*, Paris, 1869, p. 43.

(3) Tulasne. *Selecta Fungorum Carpologia*, t. I, p. 27.

mailles, grossièrement granuleux ; il contient une grande quantité d'une substance qui est identique au glycogène, d'après les expériences d'Errera (1).

Le noyau possède un contour net, limité par la membrane nucléaire ; au centre, ou un peu excentriquement, se trouve un gros nucléole, dont la substance très dense se

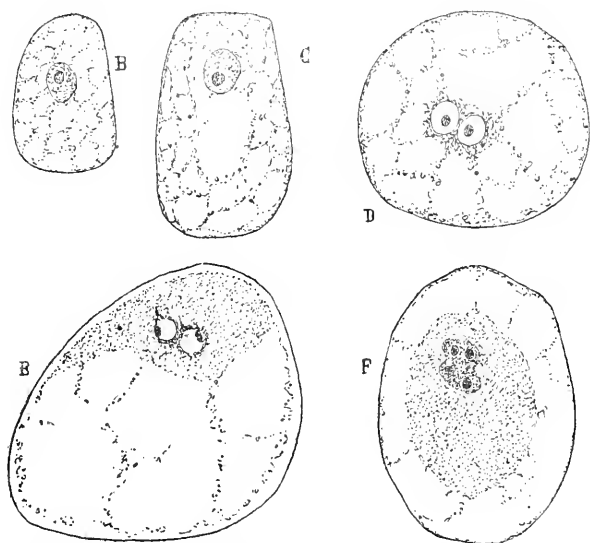


FIG. 5. — Divers stades de développement de l'Asque : *B, C*, Asques jeunes à un seul noyau ; *D, E*, Première bipartition du noyau ; *F*, Première et seconde bipartition s'opérant presque simultanément. (Grossissement 700.)

colore fortement par l'hématoxyline : le cytoplasme qui l'entoure, est vacuolaire ; on y distingue parfois cependant un fin réticule chromatique (fig. 5, *B, C*).

La première division du noyau peut s'opérer sans que le protoplasme ait changé de caractère ; toutefois, fréquemment, la différenciation en deux couches est déjà commencée : l'une reste formée d'un protoplasme gros-

(1) Errera. *L'épiplasma des Ascomycètes et le glycogène des végétaux*, Bruxelles, 1882.

sièrement granuleux à larges trabécules ; la seconde est constituée par un amas de substance plus dense, plus homogène, dépourvue de vacuoles ; c'est dans cette dernière couche que le noyau se divise et c'est à son intérieur que les spores se forment plus tard.

Les divisions du noyau ont lieu suivant le mode direct

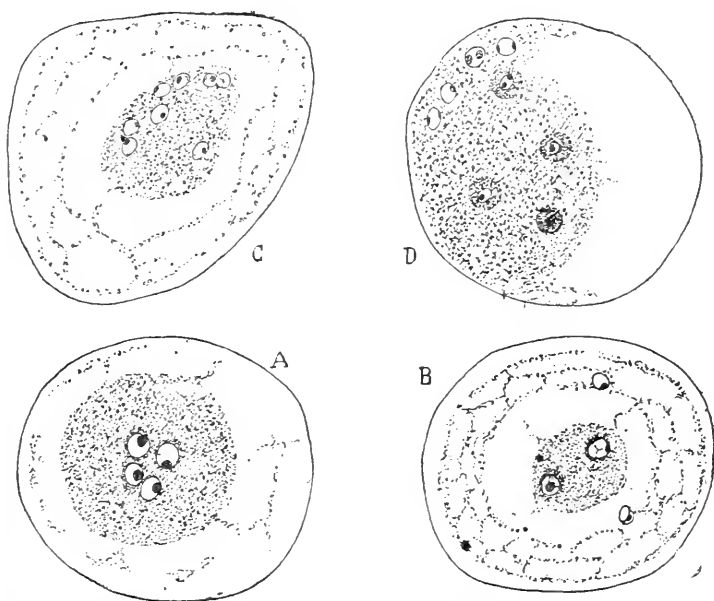


FIG. 6. — A, Asque renfermant quatre noyaux vésiculaires; B, Deux des noyaux seulement restent dans l'amas central; C, l'Asque contient huit noyaux; D, Quatre de ces noyaux s'entourent d'un protoplasma de choix pour former les spores; les autres noyaux sont destinés à disparaître. (Grossissement 700.)

par simple bipartition (fig. 5, B) ; lorsque le noyau est plus riche en chromatine, les deux premières bipartitions se font presque simultanément (fig. 5, F) ; au stade quatre, nous avons vu exceptionnellement deux des noyaux allant se perdre dans le protoplasma de rebut (fig. 6, B) ; en général, les huit noyaux, provenant des trois bipartitions successives, s'espacent dans l'amas protoplasmique interne (fig. 6, C).

Reportons-nous un instant aux observations de Tulasne : « Les matières solides qui flottent, dit-il, à l'intérieur du sporange sont habituellement réunies en une masse unique, dans laquelle se rencontrent fréquemment, soit avant l'apparition des spores, soit pendant leur développement, des gouttes liquides qui figurent des vacuoles et sont désignées par les auteurs allemands sous le nom de *Blasen* (1) ». Ces sortes de vacuoles, à n'en pas douter, correspondent aux noyaux que la technique histologique permet de déceler.

Le nombre des spores qui s'engendrent dans chaque conceptacle, est variable : dans la plupart des espèces de Truffes, il ne dépasse pas quatre ; on en trouve plus souvent deux ou trois seulement ; quelques conceptacles restent monospores et, dans ce cas, la spore solitaire est plus grosse qu'à l'ordinaire.

Il était intéressant de rechercher à quelle disposition histologique spéciale correspond cette inégalité du nombre des spores dans le conceptacle.

Au moment de la formation des spores, il existe, nous l'avons vu, huit noyaux espacés dans une masse centrale de protoplasma dense et granuleux ; normalement, une spore devrait se former autour de chacun des noyaux, comme dans beaucoup d'espèces appartenant au même groupe ; en fait, plusieurs de ces noyaux sont destinés à disparaître, après s'être fragmentés ; on voit se condenser autour des autres une substance plus finement granuleuse, plus homogène (fig. 6, *D*) ; elle est plus sensible aux réactifs colorants : bientôt sa surface se sépare nettement de la masse générale par une zone incolore, à l'intérieur de laquelle s'organise la membrane de délimitation.

Les spores augmentent de volume ; en même temps, leur noyau se divise rapidement ; ceux qui en proviennent

(1) Tulasne. *Fungi hypogæi* (note de la page 41).

sont sphériques ; la membrane nucléaire possède un double contour ; le nucléole est gros relativement au volume du noyau ; il se colore bien par l'hématoxyline, alors que le cytoplasme reste à peu près incolore.

Ces noyaux, dans les spores jeunes, sont plongés au mi-

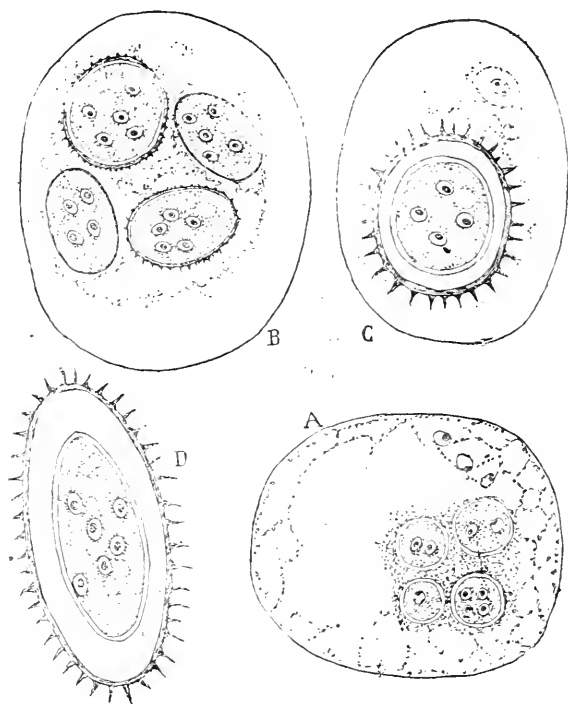


FIG. 7. — A, Asque renfermant quatre jeunes spores ; les noyaux stériles sont isolés dans les trabécules ; B, Spores à un état plus avancé de leur développement ; leur protoplasma contient plusieurs noyaux et des vacuoles de diverses grandeurs ; C, Asque monospore ; on voit à côté la trace de spores atrophiées ; D, Spore presque mûre d'un conceptacle monospore. (Grossissement 700.)

lieu d'une substance grenue (fig. 7, A) ; des vacuoles ne tardent pas à s'y montrer ; leur volume est très variable (fig. 7, B, C, D).

L'existence simultanée, dans les spores, des noyaux et des vacuoles, explique certaines erreurs de descriptions

des auteurs ; mais il est certain que les globules égaux disposés en forme de grappe dont parle Tulasne, correspondent aux noyaux des spores ; cela est si vrai, que, malgré l'imperfection de ses moyens d'observation, il est tenté de leur attribuer une membrane spéciale (1).

Aussi pouvons-nous prévoir sans peine, que l'étude histologique du groupe des Tubéracées fournira ultérieurement une foule de faits nouveaux et intéressants, car, d'après Tulasne, « la pluralité des globules et leurs volumes relatifs sont, de même que leur arrangement symétrique, des caractères assez constants pour qu'on puisse, par leur moyen, différencier les espèces ».

Pendant l'accroissement des spores, leur protoplasma, ainsi que l'épiplasme qui les entoure, se colorent par l'iode assez uniformément en jaune brun ; l'épiplasme disparaissant peu à peu, la coloration caractéristique du glycogène ne se manifeste plus finalement qu'à l'intérieur des spores.

Celles-ci sont protégées par une double membrane, l'épispore et l'endospore. La première prend une couleur brune ; sa surface se recouvre de petites aspérités qui, dans cette espèce, se transforment en longues épines : membrane et épines sont cutinisées. L'endospore reste incolore ; à maturité, dans nos préparations, cette membrane interne était, le plus fréquemment, séparée de la membrane externe par un large intervalle.

Le nombre des noyaux d'une spore de Truffe arrivée à maturité est variable : il est de dix à quinze environ et dépend du volume de cette spore. Si je ne me trompe, c'est la première fois que l'on signale une semblable prolifération des noyaux à l'intérieur de ces corps reproducteurs ; dans le genre *Aspergillus*, qui appartient au même groupe de Périsporiacées, la spore ne possède que deux

(1) Tulasne. *Fungi hypogæi*, p. 48.

noyaux (1). Nous devons ajouter que, dans la spore mûre, certains changements importants se produisent : une substance oléagineuse s'amasse dans les vacuoles qui augmentent de volume ; ces globules oléagineux se réunissent en une ou deux masses centrales, le protoplasma se réduit et se condense ; on y distingue encore quelque temps les noyaux, puis il devient presque impossible de les apercevoir.

Dans l'état actuel de nos connaissances, on ignore si la Truffe se multiplie et s'étend de préférence au moyen de son mycélium, c'est-à-dire par une sorte de bouturage ou de marcottage, ou bien par ses spores jouant le rôle de graines. Jusqu'ici la germination de ces spores n'a pas été observée et il est intéressant de rappeler une opinion qui a prévalu pendant longtemps ; cette opinion s'appuie, en partie au moins, sur une observation de Vittadini qui a trouvé à l'intérieur d'échantillons âgés et altérés, une multitude de petites Truffes, à peine plus grosses qu'un grain de millet.

Bulliard a pu dire que les spores de la Truffe sont de « petites truffes toutes formées ; qu'elles ne se développent point comme graines, mais par une simple extension de parties comme fœtus » ; pour Turpin, ces corps reproducteurs « sont autant de *Truffinelles* auxquelles il ne manque plus que de s'étendre et de se remplir de nouvelles Truffinelles, pour être des Truffes parfaites. »

La connaissance du développement de la Truffe ne permet plus d'accepter ces idées. Malgré l'absence d'observations précises, nous pouvons quand même, en considérant ce qui a lieu dans les autres champignons, prévoir le mode de germination de la spore ; le nombre considérable des noyaux qu'elle renferme, nous autorise à penser qu'elle développe à sa surface un système rayonnant de

(1) P.-A. Dangeard. *Loc. cit.*, p. 52.

filaments germinatifs ; il suffit d'un noyau à chaque filament pour qu'il puisse s'allonger et se développer en mycélium ; ce mycélium, trouvant une racine de chêne à sa disposition, recommencera le cycle que nous venons d'exposer.

On a bien souvent dit et répété : Si vous voulez des Truffes, semez des glands : ce qui est vrai pour tous les pays ayant des truffières naturelles ; cette coïncidence peut s'expliquer facilement. En effet, ces glands que l'on sème, appartiennent à des chênes truffiers ; ils se sont trouvés en contact avec la terre des truffières farcie de spores ; ces dernières se sont fixées par leurs aspérités sur les glands ou sur les cupules qui les renferment ; la plantule de chêne aura donc ses racines au voisinage des spores ; le mycélium que celles-ci émettront autour d'elles en germant, trouvera facilement à sa portée les jeunes racines de chênes qui lui sont nécessaires pour ses développements ultérieurs.

Nos connaissances précises s'arrêtent à la germination de la spore : il est nécessaire qu'elles soient complétées par des expériences conduites avec soin ; c'est de ce côté que doivent porter maintenant de préférence les efforts des observateurs, et peut-être, de leurs études, verra-t-on éclore une méthode rationnelle et pratique de culture artificielle de la Truffe !

CONCLUSIONS

Cette étude, qui a eu pour objet le *Tuber melanospermum*, donne une vue d'ensemble de nos connaissances sur la Truffe ; elle renferme un certain nombre de résultats nouveaux.

A. — La nature intime des rhizomorphes est signalée pour la première fois ; elle permet d'établir une distinc-

tion capitale entre les rhizomorphes incolores et ceux qui sont colorés en brun ; cette distinction pourra s'étendre sans aucun doute aux rhizomorphes des autres champignons.

B. — La reproduction sexuelle s'opère dans la Truffe comme chez les autres Ascomycètes par le concours d'oospores à deux noyaux ; ces oospores, après fécondation, se développent en asques ; la Pézize fournit un excellent exemple de cette reproduction sexuelle chez les Discomycètes ; la Truffe en constitue un également bon chez les Périssporiacées.

C. — Nous avons indiqué l'origine des spores et leur mode de formation, ce qui permet de comprendre maintenant les raisons de leur inégalité numérique dans chaque conceptacle.

D. — Les spores, à maturité, renferment de nombreux éléments nucléaires qui proviennent de bipartitions successives d'un seul noyau primitif : c'est la première fois que l'on constate dans le groupe entier des champignons, une pareille activité pendant la formation et l'accroissement de la spore.

E. — Dans un assez grand nombre de champignons, on observe la présence de calcs, situés de chaque côté des cloisons, dans les tubes mycéliens ; cette disposition est identique à celle des tubes criblés chez les plantes vasculaires.

Nota. — Toutes les figures fournissant des détails histologiques ont été dessinées à la chambre claire (objectif à immersion homogène, 2,0 m. m de Zeiss).

LA REPRODUCTION SEXUELLE

CHEZ LES BASIDIOMYCÈTES (NOTE PRÉLIMINAIRE)

Par P.-A. DANGEARD

La reproduction sexuelle des Urédinées, des Ustilaginées et des Ascomycètes, est maintenant bien connue et son existence a été appuyée sur l'étude de nombreuses espèces.

Cette note, consacrée aux Basidiomycètes, est destinée à montrer que c'est bien, ainsi que nous l'avions prévu, dans la jeune baside que s'effectue la fécondation.

Nous avons choisi comme exemple la *Tremella mesenterica*; cette espèce se trouvait en pleine période de fructification; sa place dans les Protobasidiomycètes augmentait l'intérêt de cette recherche.

Dans ce champignon, les filaments mycéliens sont plongés dans une substance gélatineuse abondante qui se gonfle beaucoup dans l'eau; ils sont cloisonnés de loin en loin et chacun des articles renferme en général plusieurs noyaux qui forment çà et là, au milieu du protoplasma, des taches chromatiques. Quelques filaments mycéliens fertiles viennent se ramifier dans la couche corticale: ce sont les extrémités de leurs rameaux qui se transforment en oospores. Ces oospores renferment deux

noyaux : contrairement aux noyaux des hyphes, ils laissent facilement apercevoir un nucléole et une membrane nucléaire; le protoplasma est également plus homogène que celui des hyphes, plus colorable par les réactifs; ces oospores se séparent du mycélium par une cloison; elles sont allongées; leur longueur n'augmentera que faiblement par la suite; il en est tout autrement de leur diamètre: aussitôt après la fusion des deux noyaux en un seul, le volume du noyau sexuel augmente peu à peu et l'oospore arrive progressivement à atteindre une grosseur relativement considérable. Il est bon de remarquer, afin d'éviter des méprises, que la fusion des deux noyaux a lieu de très bonne heure, avant l'augmentation sensible du volume des oospores: aussi faut-il choisir, pour l'étude de la fécondation, des échantillons qui ne font que commencer à fructifier.

Pendant que les oospores grossissent, leur protoplasma se charge d'une huile colorée en jaune; au centre de l'oospore, le noyau se montre avec une membrane nucléaire, un cytoplasme clair et un très gros nucléole: il est probable qu'il existe à ce stade des granulations chromatiques, puisque nous les retrouvons plus tard; mais il nous a été jusqu'ici impossible de les voir nettement.

Ce noyau subit deux bipartitions successives, à la suite desquelles l'oospore se trouve partagée longitudinalement en quatre par des cloisons: ici, le promycélium est donc interne au lieu d'être externe comme chez les Ustilaginées et les Urédinées. Chacune de ces quatre cellules pousse un tube germinatif, dans lequel s'engagent d'abord le protoplasma, ensuite le noyau; ce tube atteint la surface et là, il se renfle légèrement; sur ce renflement, un tube étroit se développe et se termine par une sorte de bouton; c'est le début de la spore qui grossit et arrive à son volume normal.

Pendant que le noyau chemine dans le tube germinatif, il s'allonge suivant l'axe ; sa structure, à ce moment, est la suivante : le nucléole est fréquemment placé à l'avant, et derrière lui, se trouve la masse nucléaire, de forme elliptique, dans laquelle on peut distinguer nettement les granulations chromatiques ; ces granulations chromatiques sont bien régulières ; il est possible, par les doubles colorations, de les colorer en rouge, alors que le protoplasma possède une coloration bleue. Cette disposition du nucléole et des granulations chromatiques permet au noyau de s'engager dans l'étroit canal qui fait communiquer le tube germinatif avec la spore. Arrivé dans la spore, ce noyau reprend sa forme globuleuse tout en conservant sa structure ; les granulations chromatiques restent très apparentes ; certaines spores renferment deux noyaux ; la formation de ces spores ou sporidies rappelle entièrement celle que nous avons vue chez les Ustilaginées.

En résumé, chez les Basidiomycètes, c'est la jeune baside qui est l'oospore ; cette oospore, après fécondation, fournit directement les embryons ; ou bien, elle forme des cloisons, ce qui correspond à un promycélium interne.

NOTICE BIBLIOGRAPHIQUE

SUR

NOS PUBLICATIONS EN BOTANIQUE

Par **P.-A. DANGEARD**

Lorsqu'un explorateur a parcouru, le carnet à la main, de nombreux pays, il revient avec une riche moisson de souvenirs qu'il a fixés au jour le jour ; dans ses voyages, il a vu avec ses idées et suivant son tempérament ; on ne saurait lui en faire un reproche. Il en est de même du naturaliste.

Tous les deux éprouvent le besoin de mesurer de temps en temps le chemin parcouru, de récapituler leurs observations, d'en dégager les idées générales. Ce travail leur est utile pour des recherches ultérieures : il l'est également à ceux qui suivent une direction analogue.

Ce sont les raisons qui m'ont déterminé à publier cette Notice : elle marque une première étape de dix années de vie scientifique.

Il y a une dizaine d'années en effet que, sur la demande de M. Morière, doyen de la Faculté des sciences de Caen, j'obtins d'être nommé préparateur de Botanique. Bien décidé, dès lors, à me consacrer exclusivement et entiè-

rement à cette science, je cherchais des sujets d'étude un peu au hasard, herborisant avec M. Morière aux excursions des élèves de la Faculté, explorant, sous sa direction, les principales stations parcourues déjà et signalées par les Lenormand et les de Brébisson (1).

De l'une de ces excursions, j'avais rapporté des Oscillaires et un jour, je m'aperçois que les filaments de cette algue s'étaient renflés en ampoules desquelles, à un certain moment, on voyait sortir un grand nombre de corpuscules agiles. Un instant, je crus avoir trouvé la reproduction par zoospores chez les Cyanophycées. M. le docteur Bornet, avec sa vaste érudition, n'eut pas de peine à me détromper, mais en même temps, avec sa grande bienveillance, il m'encouragea à poursuivre l'étude de ce parasite des Oscillaires.

De là date mon premier travail (2) ; il a déterminé chez moi, pour l'étude des infiniment petits, un goût très vif qui se manifesta bientôt par quelques nouvelles observations (3-5).

A ce moment, on parlait beaucoup autour de nous de la théorie darwinienne, des Vampyrelles et des Monères d'Haeckel ; il semblait pour plusieurs que l'existence de ces êtres, d'autant plus mystérieux qu'ils n'avaient été vus que par quelques privilégiés, était en contradiction avec les doctrines spiritualistes. Tel n'a jamais été notre avis :

(1) Notice biographique sur M. Morière (*Journal de Botanique*, 1^{er} janvier 1889).

(2) Note sur le Chytridium subangulosum (*Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 3^e série, 9^e volume, 1884-85, p. 88).

(3) Note sur le Catenaria anguillula (*Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 3^e série, 9^e volume, 1884-85, p. 126).

(4) Note sur le développement des spores durables de Pseudosporangium nitellarium (*Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 3^e série, 10^e volume, 1885-86, p. 150).

(5) Vampyrella (*Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 3^e série, 10^e volume, 1885-86, p. 177).

en adoptant les idées d'évolution, nous avons eu soin de déclarer : « Qu'un fait indéniable domine pour nous l'ensemble du monde organisé : une création dont l'action première est lointaine et dont les effets actuels sont aussi merveilleux que leur manifestation initiale. » (Introduction à la première série du *Botaniste*.)

Je me suis attaché de plus en plus à ces idées d'évolution parce qu'elles ont été pour moi un guide sûr, me permettant souvent de prévoir un développement ou un fait avant de l'avoir vérifié ; cette influence s'est fait sentir dans presque tous les sujets que nous avons abordés et qui gravitent, pour la plupart, autour de ces trois idées principales :

I. *Distinction des animaux et des végétaux ;*

II. *Constitution interne de la plante ;*

III. *Reproduction sexuelle des champignons.*

I

Le problème de la distinction des animaux et des végétaux ne pouvait se poser sérieusement que le jour où l'on a disposé d'instruments assez puissants pour explorer le domaine des infiniment petits : il ne pouvait recevoir un commencement de solution que par l'étude approfondie du développement de ces êtres.

Ehrenberg, Dujardin, Stein nous ont révélé, dans leurs magnifiques travaux, l'existence d'un monde nouveau insoupçonné des anciens : mais la classification s'y montre hésitante. La raison en est simple : ces savants n'ont pu entrevoir souvent qu'un moment dans la vie de ces êtres ; ils ont pris et fixé une ou deux poses, alors que l'idéal est une série d'instantanés s'étendant sans discontinuer à toute la vie de l'être, dans sa structure et dans ses fonctions.

La question serait-elle donc insoluble? Nous ne le pensons pas.

On ne peut actuellement, dans la recherche de l'organisme primordial, de celui qui a donné naissance, par des modifications dans le temps, aux formes innombrables de plantes et d'animaux, remonter qu'à l'élément cellulaire; mais il faut entendre qu'il y a de l'élément moléculaire à la cellule, un abîme aussi grand à franchir que celui qui sépare cette cellule de ses composés : plantes et animaux supérieurs. Si le microscope nous permet de suivre les stades d'évolution de la cellule, nous n'avons rien jusqu'ici qui puisse nous permettre de suivre l'évolution de l'élément moléculaire à la recherche de la vie; nous ignorons même si l'abîme a été franchi d'un bond ou si l'élément moléculaire a évolué lentement vers la cellule, sous l'influence créatrice.

Nous pouvons du moins nous expliquer l'existence chez les cellules, malgré leurs caractères communs, de tendances variées et multiples. Deux tendances principales se dégagent, dès l'origine, des tendances secondaires qui auront pour résultat les différences individuelles; ces deux tendances ont affecté le mode de nutrition et elles ont imprimé aux deux règnes leurs caractères propres.

La cellule peut, en effet, se nourrir de deux façons différentes (6) :

Elle absorbe les aliments solides à son intérieur, les y digère et finalement expulse ou abandonne les résidus; l'ingestion des particules solides peut se faire en un point quelconque de la surface; il en est de même de la défécation, si le protoplasma est nu; s'il est recouvert d'une membrane, des ouvertures spéciales sont ménagées pour l'entrée et la sortie des aliments.

(6) Sur l'importance du mode de nutrition au point de vue de la distinction des animaux et des végétaux (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1887).

Ou bien la cellule ne peut introduire dans son protoplasma que des substances à l'état liquide ou gazeux : la digestion est localisée à la surface du corps, revêtu généralement, dans ce cas, d'une membrane continue.

Si la plante et l'animal se sont engagés dans deux directions différentes ; si, partant d'une commune origine, ils ont évolué en accentuant de plus en plus leurs différences d'organisation et même de fonctions ; s'il existe deux règnes organisés, c'est, en un mot, parce qu'il y a pour la cellule deux manières de se nourrir.

Telles étaient les conclusions de notre thèse de Doctorat, en 1886 (7), travail dans lequel nous avons pu étudier de nombreuses espèces de Vampyrelles et de Rhizopodes, des Monadinées zoosporées, un grand nombre de Chytridinées et d'Ancylistées.

Un autre résultat important était encore acquis. On avait remarqué çà et là, chez les Flagellés et les Rhizopodes, la présence de germes endogènes, et plusieurs naturalistes concluaient à un mode de reproduction particulier. L'étude attentive de ces germes nous permit de démontrer leur nature parasitaire, et ces formations prirent place dans les Chytridinées sous le nom de *Sphaerita endogena* (8).

Nous avons démontré la nature animale de deux groupes primordiaux, celui des Vampyrelles conduisant directement aux Rhizopodes et indirectement aux Flagellés par l'intermédiaire des Monadinées zoosporées ; nous avons mis hors de doute la nature végétale de la famille des Chytridinées qui soutient le groupe entier des champignons. Il nous restait à faire semblable travail pour les Algues : rechercher leur point de départ et

(7) Recherches sur les organismes inférieurs (*Annales des sciences naturelles*, 7^e série, Bot., t. IV).

(8) Sur un nouveau genre de Chytridinées, parasite des Rhizopodes et des Flagellates (*Bulletin de la Société Botanique de France*, 1886).

au besoin constater les hésitations de la cellule à s'engager dans cette direction qui devait être pourtant si féconde.

Les Algues, ainsi que les Champignons, prennent contact avec la série animale au niveau des Flagellés : elles débutent par l'intermédiaire de genres vivant, comme les *Polytoma*, les *Astasia*, les *Chilomonas*, dans des liquides chargés de substances nutritives solubles : chez ces êtres, la bouche, devenue un organe inutile, a disparu.

Si le milieu nutritif s'appauvrit, la vie ne sera alors possible que dans le cas où la digestion superficielle ou végétale viendra suppléer la nutrition animale et même la remplacer : c'est ce qui s'est produit pour les champignons et les algues ; mais ces dernières ont été plus favorisées, et dès le début, à la digestion superficielle, un nouveau facteur est venu s'ajouter. Ce facteur inattendu, la chlorophylle, a permis à la plante d'emprunter à l'air son carbone ; une nutrition dite holophytique s'ajoutait ainsi, pour les végétaux, à la nutrition superficielle notoirement insuffisante.

Cette orientation végétale s'accuse nettement dans les Chlamydomonadinées et les Volvocinées, deux familles auxquelles nous consacrons, après quelques études préliminaires (9-12), un mémoire particulier en 1887 (13).

D'autres familles d'algues ont une origine identique.

(9) Observations sur le développement du *Chlamydococcus pluviialis* (*Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 4^e série, 1^{er} volume 1886-87, p. 43).

(10) Note sur le genre *Chlamydomonas* (Id. p. 151).

(11) Note sur le genre *Chlorogonium* (Id. p. 160).

(12) Notes sur la formation des anthérozoïdes dans l'*Eudorina elegans* (Id. 1887-88, p. 124).

(13) Recherches sur les algues inférieures (*Annales des sciences naturelles*, Bot. t. VII, avec deux planches).

Nous ne nous bornons pas à énoncer cette proposition ; nous l'appuyons sur l'observation de nombreux développements complets, pour la plupart encore inconnus ; c'est ainsi que nous étudions successivement les Péridiniens (14), les Cryptomonadinées et les Euglénées (15-16), puis une nouvelle famille, celle des Polyblepharidées (17-18).

Dans ces dernières familles, la multiplication de l'individu s'opère par une simple bipartition ; sa protection est assurée par la production rapide de kystes ou bien d'une manière moins effective par la sécrétion d'une substance gélatineuse réunissant un certain nombre de cellules en colonies palmelliformes. Dans les Chlamydomonadinées et les Volvocinées, l'individu se multiplie au moyen de zoospores nées dans des sporanges : il possède une reproduction sexuelle bien caractérisée ; nous avons réussi à la découvrir dans un certain nombre d'espèces où on l'ignorait et aussi chez plusieurs genres nouveaux.

A cette époque, nous menions de concert l'étude des Algues et des Champignons (19-21).

(14) Les Péridiniens et leurs parasites (*Journal de Botanique*, n° des 16 avril et 1^{er} mai 1888).

(15) Observations sur les Cryptomonadinées (*Bulletin de la Société botanique de France*, 1888).

(16) Recherches sur les Cryptomonadinées et les Euglénées (*Le Botaniste*, 1^{re} série, 1^{er} fascicule).

(17) Sur la nouvelle famille des Polyblepharidées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1889).

(18) Mémoire sur les algues (*Le Botaniste*, 1^{re} série, p. 127-174, Pl. VI-VII).

(19) Notes mycologiques (Session cryptogamique des Sociétés Botanique et Mycologique, Paris, 1888).

(20) Sur un nouveau genre de Chytridinées parasite des algues (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1888).

(21) Recherches sur les Chytridinées (*Le Botaniste*, 1^{re} série, p. 39-74, Pl. II-III).

Ces diverses études nous avaient familiarisé avec l'ensemble des infiniment petits et elles nous rendaient le travail facile. Nous avons pu ainsi, à peu d'intervalle, publier deux autres mémoires.

Les Vampyrelles ont été placées longtemps parmi ces fameux Monériens hypothétiques d'Haeckel : un examen attentif permet cependant d'y déceler, à tous les stades de leur développement, l'existence de nombreux noyaux nucléolés ; je suis même porté à croire qu'il n'existe aucune monère, c'est-à-dire aucun organisme vivant dépourvu d'éléments nucléaires (22) ; dans ce travail, nous exposons, parmi un grand nombre d'autres faits, les résultats d'une excursion chez les Acinétiens, infusoires à structure et à développement bien particuliers.

Les infiniment petits, ainsi que les organismes supérieurs, sont en lutte continuelle avec une foule de parasites divers : rien n'est plus intéressant que de connaître les mœurs de ces parasites, leur organisation, leur structure, leur reproduction ; à chaque pas, on fait des découvertes du plus haut intérêt. On ne peut manquer d'être frappé par les transformations successives du *Ciliophrys marina* Dang., tour à tour Rhizopode et Flagellé, et je ne connais aucun organisme plus remarquable que le nouveau genre *Antlea* qui vit sur les *Closterium* : c'est un Flagellé en forme de toupie, qui, sans aucune différenciation, absorbe d'un côté les aliments, pour les rejeter de l'autre après digestion (23).

Ce sont là les mémoires principaux publiés dans cet ordre d'idées ; il faut y ajouter quelques notes d'intérêt

(22) Contribution à l'étude des organismes inférieurs (*Le Botaniste*, 2^e série, p. 4-58, Pl. I-II).

(23) Mémoire sur quelques maladies des algues et des animaux (*Le Botaniste*, 2^e série, p. 231-268, Pl. XVI-XIX).

plus spécial, que nous n'avons pas le loisir d'analyser (24-37).

Je ne puis m'empêcher de noter spécialement une observation sur la nutrition animale des Périidiniens incolores ; elle témoigne, chez ces êtres, de mouvements calculés qui dénotent une véritable intelligence dans la préhension des aliments (38).

Si l'on admet les conclusions générales qui découlent de l'ensemble de ces divers travaux, les organismes inférieurs se séparent nettement en deux séries, l'une animale, l'autre végétale : tout s'explique ; l'orientation

(24) Etude du noyau dans quelques groupes inférieurs de végétaux (*Comptes rendus, Acad. scien.*, 29 juillet 1889).

(25) Contribution à l'étude des Bactériacées vertes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1891, et *Le Botaniste*, 2^e série, p. 151-160, Pl. VIII).

(26) Sur deux espèces nouvelles de *Chytridium* (*Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, 1887-88, p. 152).

(27) Sur la présence de crampons chez les Conjuguées (*Le Botaniste*, 2^e série).

(28) Les genres *Chlamydomonas* et *Corbierea* (*Le Botaniste*, 2^e série, p. 272-274).

(29) La sexualité chez les algues inférieures (*Journal de Botanique*, 1888).

(30) Indications sur la récolte des algues inférieures : modes de culture et technique (*Notarisia*, 1890).

(31) Note sur la délimitation des genres *Chytridium* et *Rhizidium* (*Revue mycologique*, n° 51, juillet 1891).

(32) Rhizopodes et Flagellés (*Le Naturaliste*, 15 avril 1892).

(33) Les noyaux d'une Cyanophycée, le *Merismopedia convoluta* (*Le Botaniste*, 3^e série, p. 28-34).

(34) Note sur un *Cryptomonas* marin (*Le Botaniste*, 3^e série, p. 32).

(35) Le *Polysporella Kutzingii* Zopf. (*Le Botaniste*, 3^e série, p. 209-214, Pl. XIX).

(36) Observations sur le groupe des Bactéries vertes (*Le Botaniste* 4^e série, 1^{er} et 2^e fascicules, p. 1-3).

(37) Sur la structure des Levures et leur développement (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule, 15 janvier 1894, p. 282-286, Pl. XXII).

(38) La nutrition animale des Périidiniens (*Le Botaniste*, 3^e série, p. 1-27, Pl. I-II).

végétale doit être notée avec les premiers effets de la cause qui l'a produite : les ressemblances des algues inférieures et des champignons sont naturelles ; plus on sera près du point de départ, plus ces ressemblances seront étroites.

La chlorophylle intervient, avons-nous dit, au début de la différenciation végétale pour suppléer à une nutrition superficielle incomplète : il existe pourtant des animaux colorés en vert. Le fait est exact, mais cette chlorophylle n'appartient pas en propre à l'animal : elle est fixée sur des corpuscules étrangers qui ne sont autre chose que de petites algues microscopiques : ces dernières vivent en symbiose dans le tissu de l'animal : leur étude nous a permis de confirmer les vues de Brandt et de Balbiani sur leur nature (22) ; ces algues ont reçu le nom de Zoochlorelles ; elles sont signalées chez un certain nombre d'Infusoires et chez quelques Métazoaires. Les Zoochlorelles étaient inconnues dans le groupe entier des Flagellés : nous avons décrit une espèce nouvelle, l'*Anisonema viridis*, qui en est abondamment pourvue (18).

Dans l'état actuel de nos connaissances, avec la classification naturelle que nous proposons, la chlorophylle est propre aux végétaux (39-41).

Dans les champignons, la chlorophylle manque : la cellule, réduite à sa digestion superficielle, s'est trouvée dans les plus mauvaises conditions : aussi, ces êtres ont vainement porté ce mode de nutrition à son maximum d'intensité : ils sont devenus des parasites effrénés,

(39) La chlorophylle chez les animaux (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1889).

(40) La chlorophylle normale existe-t-elle chez les animaux ? (*Le Naturaliste*, 4^{er} mars 1891).

(41) La couleur verte des animaux (*Le Naturaliste*, 1^{er} juin 1891).

semant partout la destruction (42). Malgré cela, leur évolution se trouvait forcément limitée : le groupe se termine pauvrement sans avoir pu produire autre chose qu'un nombre incalculable d'espèces non différenciées.

Chez les algues, il en a été autrement ; avec la chlorophylle, la plante inférieure a pu évoluer graduellement — nous en connaissons les stades — jusqu'à la plante supérieure. Celle-ci étendra de plus en plus sa digestion superficielle, en multipliant son système de racines, développant ainsi une surface immense : elle multiplie à l'infini la zone d'action de la chlorophylle, en exposant aux rayons solaires les mille surfaces limbaires des feuilles !

Quelle est donc l'organisation de cette plante supérieure ?

II

L'organisation d'une plante supérieure constitue un ensemble complexe, et le rôle de l'anatomie est de nous la dévoiler et de nous l'expliquer.

Dans toute plante verte, la fonction de nutrition comprend une *digestion superficielle* qui s'effectue en général par des poils absorbants, et une *nutrition chlorophyllienne* dont le siège principal se trouve dans les feuilles.

Cette localisation sur des organes spéciaux ne s'est pas effectuée brusquement : dans les algues, elle manque ou reste incomplète. Elle se montre nettement dans les Muscinées avec l'apparition des poils absorbants et celles des feuilles.

(42) Les maladies du pommier et du poirier (*Le Botaniste*, 3^e série, p. 33-116, Pl. III-XII). Ouvrage couronné par l'Association Pomologique de l'Ouest. Consulter également plusieurs articles de vulgarisation publiés dans la revue *Le Cidre et le Poiré*, 1893-1894, Argentan.

Ces plantes, en raison même de leurs caractères primitifs, devaient peu compter sur leur digestion superficielle qui exige un sol riche en principes nutritifs : de là vient cette prédominance de la nutrition chlorophyllienne et des organes qui la représentent. Aussi la tige portant les feuilles a-t-elle précédé la racine portant les poils absorbants.

Nous pouvons même dire plus : la Muscinée simple n'avait besoin que du *poil absorbant* pour la nutrition superficielle, que de l'*expansion foliacée* pour sa nutrition chlorophyllienne : aussi la feuille a-t-elle précédé la tige ; l'algue, effectuant sa digestion superficielle par l'organe chlorophyllien lui-même, n'avait besoin ni du poil absorbant ni de la feuille en tant qu'organe spécial : aussi la formation de la feuille a-t-elle suivi celle du thalle qui réunissait la double fonction.

Nous pouvons dire : La feuille est une modification du thalle ainsi que le poil absorbant : la tige provient des feuilles, et la racine n'est qu'une tige adaptée à son rôle spécial ; chaque organe nouveau, dans les idées d'évolution, ne pouvant être, au moins le plus souvent, que le résultat d'une modification d'organes existant précédemment.

La Muscinée a d'abord cherché à étendre sa partie foliacée en largeur, comme le témoigne le groupe des Hépatiques ; mais le progrès ne devait pas se produire dans cette direction. Il ne pouvait se trouver que dans la multiplication de cette partie foliacée ; au lieu d'une seule lame foliaire, il fallait un grand nombre de feuilles. Ces feuilles d'un même individu restent réunies par des parties communes : c'est l'ensemble de ces dernières qui constitue l'axe caulinaire, la tige, et, dans cette dernière, on pourra encore le plus souvent reconnaître ce qui appartient à chaque feuille, non seulement par l'étude anatomique des tissus, mais aussi, dans beaucoup de cas, par un simple examen superficiel.

La différenciation de l'organe chargé de la digestion superficielle est plus lente : dans les Muscinées, les poils absorbants se fixent encore directement sur le thalle ou sur l'extrémité inférieure de la tige. Cet état de choses ne peut durer : les poils, à cause de la simplicité de leur structure, n'ayant pas la ressource, comme la feuille, de pouvoir constituer un axe qui leur soit propre, cet axe est emprunté à la tige. C'est l'extrémité inférieure de la tige qui, chez les Cryptogames vasculaires, va fournir les axes supports des poils radicaux. Pour que cette conclusion soit exacte, il faut que nous retrouvions, dans ces racines, la structure, au moins approchée, de la tige des Cryptogames vasculaires ; or cette structure est tellement identique que, dans beaucoup de cas, on ignore où finit la tige souterraine pour devenir la racine véritable (stolons des *Nephrolepis*, tige souterraine des *Psilotum*, des *Tmesipteris*, porte-racines des Sélaginelles).

N'y a-t-il pas là un enchaînement remarquable qui ne peut manquer d'amener la conviction ? On assiste à la formation dans la plante des organes aux dépens les uns des autres, au fur et à mesure des progrès de la différenciation.

Ce sont là les idées qui doivent nous guider en anatomie comparée : au lieu de chercher à établir des contrastes entre les différents organes des plantes, ce sont les points de rapprochement qu'il faut trouver, ce sont les rapports de parenté provenant d'une communauté d'origine qu'il faut établir !

La plante en est arrivée progressivement, on l'a vu, à posséder d'une part ses feuilles et ses tiges, d'autre part ses poils radicaux et ses racines, chacune de ces parties ayant un rôle différent à remplir dans la nutrition générale ; leurs systèmes conducteurs doivent se mettre en relation l'un avec l'autre. De quelle manière ?

On a peine à croire que les rapports entre ces deux

systèmes étaient peu connus, il y a quelques années, même dans les exemples les plus vulgaires ; les notions que l'on possédait, tendaient à faire admettre que la communication s'établit sans aucun plan. Dans le seul travail d'ensemble, excellent d'ailleurs, qui existât, on croyait pouvoir dire « qu'il n'y a aucun caractère de famille à tirer de l'étude du collet ; il y a seulement une certaine constance dans l'espèce » : cette conclusion générale n'est guère compatible avec ce que nous savons de la parenté des êtres entre eux.

Préparé aux recherches anatomiques par nos fonctions de préparateur et aussi par quelques recherches originales (43-46), nous avons donné une étude du raccord des deux systèmes conducteurs chez les Dicotylédones.

Les conséquences de ce travail, qui s'étendent à plus d'une centaine d'espèces, peuvent être ainsi résumées :

1° La disposition du système conducteur des cotylédons influe sur le nombre des faisceaux de la racine : au mode de nervation penninerve des cotylédons, correspond la disposition binaire des faisceaux de la racine ; au mode de nervation palminerve, correspond le nombre quatre des faisceaux à la racine.

2° La tigelle possède des faisceaux cotylédonaire et des faisceaux foliaires ; son étude est ainsi ramenée à celle d'un entre-nœud quelconque.

3° L'insertion des faisceaux de la racine se fait sur les cotylédonaire, et de telle façon, que, dans la presque

(43) Remarques sur les canaux sécréteurs de l'*Araucaria imbricata* (Bulet. de la Société Linnéenne de Normandie, 4^e série, 1^{er} volume, 1886-87, p. 174).

(44) Sur la polystélie dans le genre *Pinguicula* (Id. p. 177).

(45) Recherches sur la structure des *Salicornie* et des *Salsolaceæ* (Id., 4^{re} série, 2^e volume, p. 88).

(46) Anatomie et développement de l'*Eranthis hyemalis* (Id. p. 130). Consulter également le *Bulletin de la Société Botanique de France*, années 1887-1888.

totalité des cas, le plan médian vertical des cotylédons passe par un faisceau ligneux de racine.

4° Ainsi compris, le mode d'union de la tige à la racine, dans la plantule, correspond assez exactement aux familles naturelles (Composées, Cucurbitacées, Crucifères, Renonculacées, etc.) ; même, lorsqu'il se rencontre une apparente exception, celle-ci, bien étudiée, ne fait que confirmer la règle (cas des *Xanthium*) (47-48).

Dans la préparation de ce travail, une idée s'était imposée peu à peu à notre esprit, et nous l'avions émise brièvement sous cette forme :

« Des modifications peuvent se produire dans la tige primaire à un même niveau. Il est commode, pour les comprendre, d'envisager la tige primaire comme le résultat d'une union intime des pétioles » (48).

Cette dépendance étroite de la feuille et de la tige, Gaudichaud l'avait consacrée dans la théorie qui porte son nom : il pouvait être dangereux de la tirer de l'oubli, même en profitant des découvertes nouvelles en anatomie pour la mettre au point. Depuis, des adhésions bien précieuses nous sont venues ; et, chez ceux même qui n'ont pas cru devoir l'adopter, la notation anatomique a subi une telle évolution que les divergences qui séparent encore les deux interprétations sont bien faibles et souvent presque négligeables.

Ces idées sur la constitution de la plante ont été exposées et développées de la manière suivante (49) :

L'organe foliaire, le « phyton » constitue une individualité comprenant :

(47) Le mode d'union de la tige et de la racine chez les Angiospermes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 15 octobre 1888).

(48) Recherches sur le mode d'union de la tige et de la racine (*Le Botaniste*, 1^{re} série, p. 75-125, Pl. IV-V).

(48) *Le Botaniste*, loc. cit., p. 418.

(49) Recherches de morphologie et d'anatomie végétales (*Le Botaniste*, 1^{re} série, p. 175-182, Pl. VIII-IX).

1° Une partie caulinare ou rachis.

2° Une partie appendiculaire, le limbe de la feuille et son pétiole. Ce sont les rachis, qui, par leur coalescence, constituent l'axe, la tige en un mot.

L'individualité des rachis se manifeste parfois extérieurement sur l'axe, grâce aux phénomènes dits de « décurrences foliaires » (*Larix*, *Cedrus*, *Araucaria*, *Lathyrus*, *Cirsium*, etc.)

L'étude des stolons et des rhizomes chez les Cryptogames vasculaires nous conduit à regarder les racines comme des axes qui, sous l'influence du milieu, ont perdu leurs feuilles; ici, les phytons, en perdant leur partie appendiculaire, ont perdu également leur individualité.

Pour bien connaître l'organisation d'une plante, il faut étudier :

1° Chacune des individualités foliaires, leur développement et les différences qu'ils présentent entre eux selon leur rôle ;

2° Les relations qui s'établissent entre eux ;

3° Les modifications qui se produisent par suite du fonctionnement des zones génératrices.

C'est ce plan qui nous a guidé dans tous les travaux d'anatomie végétale qui ont suivi : nous avons pu ainsi surprendre à la plante plus d'un de ses secrets.

De Bary, suivi par beaucoup d'anatomistes, attribuait aux Fougères en général des faisceaux concentriques, à bois central, entouré plus ou moins complètement par le liber : les cordons libéro-ligneux des *Equisetum*, ceux des *Ophioglossum* et des *Osmunda* seraient des faisceaux collatéraux ordinaires : quant au système conducteur des *Lycopodium*, des *Selaginella*, des *Tmesipteris*, des *Psilotum*, il est étudié avec les racines.

D'après MM. Van Tieghem et Douliot, les faisceaux concentriques des Cryptogames vasculaires représentent

en réalité chacun une *stèle*, c'est-à-dire l'analogue d'un cylindre central.

En examinant en détail un très grand nombre d'espèces de Sélaginelles, il nous est devenu possible d'établir la véritable nature du faisceau, sa structure, ses relations avec les feuilles ; nous avons ensuite généralisé les résultats en ce qui concerne le groupe tout entier des Cryptogames vasculaires.

Ce genre *Selaginella* est probablement, au point de vue anatomique, l'un des plus intéressants du règne végétal : nous y établissons la structure de l'individu-type, qui, en se modifiant sous l'action d'influences diverses, a fourni les nombreuses espèces tout à fait dissimilaires de forme et de structure que nous connaissons dans ce genre : nous pensons que, seule, la théorie phytonaire pouvait permettre de comprendre ces transformations et de les suivre pas à pas : seule également, elle peut fournir la véritable explication des porte-racines (50).

Nous avons, en 1888, signalé la présence d'un rhizome chez les *Tmesipteris* qui passaient pour en être dépourvus (51) ; notre attention est ainsi appelée sur ce genre dans lequel nous pouvons caractériser par la suite plusieurs espèces nouvelles, en donnant des détails très complets sur leur organisation : nous rectifions ainsi certaines idées ayant cours, et nous pouvons ramener la structure de ces plantes au cas général.

Les conclusions étaient développées sous ces divers titres (52) :

(50) Essai sur l'anatomie des Cryptogames vasculaires (*Le Botaniste*, 1^{re} série, p. 211-270, Pl. IX-XII).

(51) Le rhizome des *Tmesipteris* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1888).

(52) Mémoire sur la Morphologie et l'Anatomie des *Tmesipteris* (*Le Botaniste*, 2^e série, p. 163-223, Pl. IX-XV) et Note sur les mycorhizes endotrophiques (*Id.* p. 223-228).

A. Le genre *Tmesipteris* n'est pas réduit à une seule espèce, comme on l'admet : cinq espèces ont pu être caractérisées.

B. L'anatomie a été du plus grand secours pour la détermination de ces espèces.

C. Les *Tmesipteris*, sauf l'orientation verticale du limbe, ont la constitution générale des autres plantes.

D. Le faisceau des *Tmesipteris*, comme celui des Sélaginelles, comprend du protoxylème (faisceaux foliaires) auquel peut s'ajouter du métaxylème (faisceaux caulinaires); mais le métaxylème, au lieu de se différencier d'un seul côté, se développe tout autour.

On peut caractériser les diverses dispositions du système libéro-ligneux des *Tmesipteris*, en disant que ce sont des plantes monostéliques à stèle binaire (deux faisceaux), ou composée (plus de deux faisceaux), avec moelle ou sans moelle.

F. Les *Tmesipteris* sont un excellent exemple pour étudier l'organisation phytonnaire d'une plante; l'individualité des phytons s'accuse nettement à la surface de la tige.

Ces diverses recherches nous ont permis d'établir, dans une vue d'ensemble, l'équivalence des faisceaux dans toutes les plantes vasculaires (52).

Notre dernier travail d'anatomie végétale a eu pour objet l'étude des plantules chez les Conifères où nous avons précédemment fixé le mode d'union de la tige et de la racine (53).

Les résultats de cette étude (55) comprennent des faits

(52) Sur l'équivalence des faisceaux dans les plantes vasculaires (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1891).

(53) Sur le mode d'union de la tige et de la racine chez les Gymnospermes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1890).

(55) Recherches sur la plantule des Conifères (*Le Botaniste*, 3^e série, Pl. XII-XVII).

d'intérêt particulier et des faits d'un intérêt plus général : parmi les premiers, nous citerons ceux qui ont rapport à l'appareil sécréteur, au tissu de transfusion et au tissu d'irrigation, à la structure des cotylédons, à la nature des aiguilles ; parmi les seconds, il faut placer le mode d'union de la tige et de la racine dans la plantule, la signification du nombre des cotylédons, la notion du phyton chez les Gymnospermes.

« Cette notion, disions-nous, est si évidente chez les Conifères, au point de vue morphologique, qu'il serait oiseux d'y insister : chaque phyton a un rachis nettement séparé des voisins par un sillon plus ou moins profond ; c'est cette individualisation externe qui reçoit dans le langage courant le nom de décurrence foliaire, exprimant ainsi une idée fausse : on l'a considérée de même à tort comme le résultat de feuilles accolées à la tige.

Au point de vue anatomique, notre travail n'est que le développement sous toutes ses formes de ce que nous considérons comme la base de l'anatomie générale.

En effet, l'anatomiste qui voudra parcourir ce travail avec attention, comprendra quel avantage on peut retirer de la notion du phyton chez la plante pour comprendre sa véritable structure, sa charpente ; les nouveaux phytons qui se forment dans une plante, *s'intercalent* entre les anciens : c'est là l'explication naturelle de l'alternance des verticilles, de la position axillaire des branches. Dans le premier cas, les nouveaux phytons *s'intercalent* entre deux phytons du même verticille ; dans le second, ils *s'intercalent* entre les phytons de verticilles superposés ; chaque phyton ayant un rachis d'importance déterminée, il est évident que la considération de ce rachis entre en ligne de compte dans l'agencement final des phytons d'une même plante.

On doit juger un arbre à ses fruits ; or, sans la notion

du phyton, il nous aurait été impossible d'établir les règles qui président à la distribution des éléments sécréteurs chez les Conifères et, en particulier, chez les Abiétinées : il nous aurait été interdit de fixer sûrement la position de ces éléments dans la tige en l'absence d'endoderme. Il en est de même en ce qui concerne le mode d'union de la tige et de la racine. Si l'on compare les lois si simples suivant lesquelles se fait l'union des deux membres avec l'ensemble chaotique des anciennes données, même avec le renouveau qui leur a été donné par le beau travail de Gérard, il n'y aura pas, je pense, d'hésitation possible.

Il y a plus à faire encore : le phyton étant admis comme unité, c'est aux divers éléments qui le composent, que devrait s'appliquer la notation primaire : ainsi le nom péricycle est donné à tort dans la feuille au parenchyme qui s'étend entre le faisceau et l'endoderme ; le mot péridesme (Van Tieghem) exprime au contraire une idée juste ; l'ensemble des péridesmes forme dans la tige le péricycle interne et le péricycle externe, alors que les faisceaux foliaires s'unissent en couronne libéro-ligneuse ; si les faisceaux sont dispersés, il n'y a pas de péricycle ; il n'y a que des péridesmes ; ce que nous appelons moelle et rayons médullaires est loin d'avoir toujours la même valeur : ainsi les rayons médullaires, dans la structure primaire, peuvent comprendre une partie médiane de tissu fondamental et deux parties latérales de tissu péricyclique ou simplement du péricycle ; il en est de même de la moelle qui, théoriquement, doit être réduite quelquefois au péricycle interne.

En résumé, la notation anatomique a été établie en considérant d'abord la tige ; on a ensuite donné le même nom aux parties qui se retrouvaient dans la feuille ; nous pensons que la marche inverse seule est rationnelle et qu'elle aurait toutes chances d'être acceptée définitivement

le jour où elle serait fixée par un anatomiste tel que le savant professeur du Muséum.

Ces idées trouveront aussi leur application en tératologie végétale (56).

L'anatomie a commencé par être artificielle tout comme les premières classifications de plantes : ces dernières deviennent de plus en plus naturelles à mesure que l'on saisit mieux les lois de l'évolution. Il est bon d'étudier l'anatomie végétale, en se plaçant au même point de vue : c'est le seul moyen de la faire progresser et d'en faire accepter l'importance.

III

Les découvertes s'affirment quelquefois brusquement comme l'étincelle sous le choc du briquet ; plus fréquemment, elles ne sont que le résultat d'une longue préparation plus ou moins consciente.

Parmi ces découvertes, les unes sont acceptées facilement et sans discussion, alors que les autres ne s'imposent qu'après de longues années. On ne saurait trop citer le cas des Lichens : il y a plus de trente ans, que Schwendener montrait qu'un Lichen est le résultat de l'association intime d'un champignon et d'une algue ! Malgré les beaux travaux qui sont venus successivement, de divers côtés, confirmer sa manière de voir, la majorité des Lichénographes ne s'y est pas encore ralliée à l'heure actuelle. Tout récemment, aux preuves déjà données en faveur de la « théorie schwendénérienne », nous avons ajouté celles qui résultent d'une étude histologique de l'algue et du champignon (57).

(56) Note sur une anomalie florale de *Tulipa sylvestris* (*Le Botaniste*, 4^e série, 1^{re} et 2^e fascicules, 1894, p. 59), en collaboration avec M. Bougrier.

(57) Recherches sur la structure des Lichens (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 23 avril 1894).

Les résultats de nos observations sur la reproduction sexuelle des champignons sont-ils destinés à un sort analogue ? Nous avons l'intime conviction qu'il n'en sera pas ainsi ; déjà le mouvement d'adhésion se dessine ; l'attention est sollicitée de ce côté, et, par la brèche, largement ouverte, un grand nombre d'histologistes viendront explorer la place.

Il ne nous convient pas d'exposer ici les efforts restés infructueux d'un grand nombre d'observateurs ; on s'était tellement habitué, après ces insuccès, à regarder les champignons supérieurs comme dépourvus de reproduction sexuelle, que l'annonce de sa découverte a produit un certain étonnement ; c'est dans le but de dissiper les dernières hésitations, que nous rappellerons simplement la marche qui a été suivie et les constatations qui en ont été le résultat.

Dans un certain nombre de champignons occupant la base du groupe, les phénomènes sexuels sont effectués par des organes différenciés morphologiquement ; ils sont réunis sous le nom d'Oomycètes, par opposition aux autres champignons beaucoup plus nombreux, dans lesquels aucune trace de reproduction sexuelle ne semblait exister.

L'étude des Oomycètes nous a occupé tout d'abord.

Dans un premier mémoire (58), outre quelques notions complémentaires sur le noyau des Myxomycètes, nous donnons une étude complète de la structure intime du *Synchytrium Taraxaci*, à tous les stades de son développement : nous indiquons la structure des noyaux et leur dispersion pour un grand nombre d'espèces appartenant aux Chytridinées, aux Ancylistées, aux Saprologniées, aux Pérénosporées ; nous constatons que les oosporanges et

(58) Recherches histologiques sur les Champignons (*Le Botaniste*, 2^e série, p. 63-149, Pl. III-VII).

les anthéridies en présence renferment de nombreux éléments nucléaires : nous cherchons ce qu'ils deviennent pendant la fécondation, quel est leur rôle (59). Malgré d'autres recherches poursuivies récemment dans les conditions les plus favorables sur les Mucorinées (60-61), nous ne pouvons qu'entrevoir une partie du phénomène, à savoir une destruction de la plus grande partie des noyaux des gamètes et la persistance de quelques-uns, réduits à deux peut-être ($\varphi + \sigma$), qui s'uniraient en un seul noyau sexuel.

Il est assez curieux de constater que, chez les Oomycètes, la nature intime des phénomènes de fécondation reste encore à préciser, alors que dans les autres champignons, qui passaient jusqu'ici pour être dépourvus de reproduction sexuelle, celle-ci devient tout d'un coup mieux connue : la science, comme la fortune, a de ces brusques revirements.

La découverte de cette reproduction sexuelle a eu lieu d'abord chez les Urédinées (62-63) ; elle a été faite en collaboration avec un élève qui commençait, sous notre direction, sa thèse au Laboratoire de la Faculté des sciences de Poitiers.

La fécondation, dans les champignons de cette famille, consiste dans l'union de deux noyaux en un seul noyau

(59) Du rôle des noyaux dans la fécondation chez les Oomycètes (*Revue mycologique*, n° 50, avril 1891).

(60) Recherches sur la structure des Mucorinées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 19 février 1894), en collaboration avec M. Maurice Léger.

(61) La reproduction sexuelle des Mucorinées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 5 mars 1894), en collaboration avec M. Maurice Léger.

(62) Recherches histologiques sur les Urédinées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 30 janvier 1893).

(63) Une pseudo-fécondation chez les Urédinées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 6 février 1893).

sexuel : cette fusion des éléments nucléaires se produit dans les cellules des téléospores.

Ne sachant pas alors si ce phénomène était général, nous lui avons donné le nom de « pseudo-fécondation ».

J'ai confié à M. Sappin-Trouffy le soin d'étudier dans ses détails ce phénomène dans la famille en question : il s'en est acquitté avec un succès qui lui a valu un encouragement précieux de l'Académie des sciences.

Pendant ce temps, nous cherchions la solution de cette question dans les autres groupes de champignons, en commençant par les Ustilaginées ; les résultats ne se sont pas fait attendre (64) ; nous les avons développés un peu plus tard dans un mémoire spécial (65), suivi à peu de distance d'une note complémentaire (66).

A partir de ce moment, notre conviction, appuyée à la fois par les observations et par le raisonnement, a été absolue ; cela à un tel point, que nous indiquions l'endroit précis du développement où la reproduction sexuelle devait être rencontrée dans les autres groupes : celui des Ascomycètes et celui des Basidiomycètes.

Après les Ustilaginées, ce sont les Ascomycètes qui livrent leur secret, non toutefois sans difficulté (67) ; ces travaux, entrepris en vue de la confirmation d'une idée, n'ont pas été sans étendre largement nos connaissances sur le développement et l'organisation générale de ces

(64) La reproduction sexuelle des Ustilaginées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 9 octobre 1893).

(65) La reproduction sexuelle des Champignons : I. Considérations générales sur la reproduction sexuelle des algues et des champignons ; II. Recherches sur la structure des Ustilaginées (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule, 15 janvier 1894, p. 224-281, Pl. XX-XXIII).

(66) La reproduction sexuelle de l'*Entyloma Glaucii* (*Le Botaniste*, 4^e série, 1^{er} et 2^e fascicules, p. 12-17, fig. 1-3).

(67) La reproduction sexuelle chez les Ascomycètes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, n^o 19, 7 mai 1894).

êtres, ainsi qu'on peut le constater facilement en parcourant ces divers mémoires (68-69).

Il ne nous restait plus à étudier que les Basidiomycètes : nous venons de décrire leur reproduction sexuelle dans le genre *Tremella* (70), où elle offre un double intérêt : elle montre que la jeune baside a la valeur d'une oospore dans tout le groupe ; de plus, les cloisonnements qui se font à l'intérieur de cette baside, correspondent exactement à ceux du promycélium des Urédinées et des Ustilaginées.

Dans les diverses théories qui se sont produites au sujet de la reproduction sexuelle des champignons, on a bien tenté chaque fois de généraliser ; ces essais ont toujours échoué.

La principale de ces théories, due à de Bary, met plus de vingt ans à grouper un petit ensemble d'observations disparates ; ici, les faits s'enchainent et viennent confirmer les prévisions : le raisonnement peut précéder, à coup sûr, la constatation directe, et l'on est fondé à ne pas supposer d'exception, là où les déductions reçoivent si vite leur confirmation.

Ce résultat ne peut tenir qu'à deux choses : d'une part, aux caractères ancestraux communs des organes reproducteurs ; d'autre part, au procédé unique suivi par la plante et l'animal dans sa rénovation sexuelle ; toujours et partout, cette rénovation sexuelle est précédée d'une fusion, en en seul, de deux noyaux accompagnés de leur protoplasme : le noyau sexuel qui en résulte, fournira, en se divisant, les noyaux de l'embryon ou des embryons.

(68) La reproduction sexuelle des Ascomycètes (*Le Botaniste*, 4^e série, juillet 1894, 1^{er} et 2^e fascicules, p. 48-58, fig. 1-40).

(69) La Truffe : recherches sur son développement, sa structure, sa reproduction sexuelle (*Le Botaniste*, 4^e série, 3^e fascicule, p. 63-87, fig. 1-7).

(70) La reproduction sexuelle des Basidiomycètes (*Le Botaniste*, 4^e série, 3^e fascicule, p. 88).

Chez les plantes et les animaux supérieurs, les noyaux sexuels, accompagnés de leur protoplasme, sont portés sur des individus différents ou tout au moins sur des organes différents ; dans les organismes inférieurs, ils peuvent non seulement se trouver sur le même individu, mais ils en viennent, par une série de transitions insensibles, à occuper deux cellules limitrophes, comme chez certains *Spirogyra* et les *Basidiobolus*, ou même une cellule commune.

Dans ce dernier cas, exactement comme dans le premier, l'acte essentiel de la fécondation, celui-là seul qui est strictement indispensable, s'accomplit ; ses conséquences sont les mêmes.

La vérification est facile chez les Champignons : l'oospore, après la fécondation, donne naissance, par une suite de bipartitions déterminées, à des « embryons ». Ces embryons, qui ont reçu le nom de spores ou de sporidies, sont de nouveaux individus, ayant une origine identique dans les divers groupes ; ils sont mis en liberté suivant trois principaux modes : ainsi, chez les Ustilaginées et les Urédinées, les embryons sont portés par un promycélium, qui les relie à l'oospore ; ils sont renfermés à l'intérieur d'un sac chez les Ascomycètes ; ils sont fournis directement par l'oospore simple ou cloisonnée chez les Basidiomycètes.

A la suite des observations qui précèdent, nous pouvons conclure que la découverte de la reproduction sexuelle chez les champignons supérieurs est bien établie : elle entraîne une nouvelle conception de la valeur des organes ; elle établit un lien étroit entre les diverses familles.

La rédaction de cette Notice nous a permis d'exposer certaines conséquences d'ordre général : ce sont elles

qui vivifient les recherches journalières, qui leur impriment un lien et permettent de les grouper en un faisceau compact.

COMMUNICATION

La transformation de notre maîtrise de conférences en chaire vient d'être effectuée par décret en date du 29 novembre 1894 :

« M. Dangeard, docteur ès sciences, maître de conférence de botanique à la Faculté des sciences de Poitiers, est nommé professeur de botanique à ladite Faculté (chaire nouvelle). »

En portant à la connaissance des lecteurs du « Botaniste » cette nomination, nous les remercions de l'intérêt qu'ils nous ont toujours témoigné. Les rédacteurs des divers journaux périodiques français et étrangers avec lesquels nous sommes en relation d'échange, et nos abonnés, tous ont largement contribué à la diffusion des idées soutenues et exposées dans notre publication. Qu'ils veuillent bien accepter l'expression de nos sentiments les plus dévoués !

MÉMOIRE

SUR LA REPRODUCTION SEXUELLE

DES BASIDIOMYCÈTES

Par P.-A. DANGEARD

Dans la recherche des phénomènes reproducteurs chez les Champignons basidiomycètes, on a suivi deux directions différentes. Beaucoup de mycologues pensaient que les spores sont le résultat d'une fécondation, ils étaient dans le vrai ; mais au moment où ils effectuaient leurs observations, il leur était impossible d'en fournir la preuve : de là, des idées erronées sur la nature des cystides, sur la formation d'anthérozoïdes au voisinage des basides.

Les autres, trompés par la théorie de de Bary sur la reproduction sexuelle des Ascomycètes, pensaient que le carpophore tout entier est le résultat d'une fécondation ; ils recherchaient donc la reproduction sexuelle sur les premiers états mycéliens du Champignon. Cette idée était assez naturelle et elle s'appuyait d'autre part sur des analogies avec l'appareil reproducteur des Muscinées et des Cryptogames vasculaires.

Ces analogies étaient mal comprises : les sporidies produites par les basides correspondent bien, en effet,

semble-t-il, aux spores qui sont renfermées dans l'urne des Mousses ou placées dans les sporanges d'une Fougère ; elles se produisent à la suite d'une fécondation, mais l'appareil intermédiaire, celui qui provient de l'œuf et porte ces spores, est très développé chez les Mousses et les Cryptogames vasculaires ; il est très réduit chez les Basidiomycètes comme chez les autres Champignons et comme chez les Algues ; chez les Mucorinées, c'est le filament germinatif qui part de l'œuf et supporte un sporange ; chez les Floridées il se comporte, on le sait, de plusieurs façons, tantôt rudimentaire, tantôt s'allongeant beaucoup avant de produire les spores ; chez les Urédinées, les Ustilaginées, il est représenté par le promycète, alors que chez les Ascomycètes le même appareil n'est autre chose que l'asque.

Il ne faut pas s'étonner de cette réduction de l'appareil qui porte les spores chez les Algues et les Champignons, puisque chez plusieurs d'entre eux il n'existe même pas ; les œufs de *Chlamydomonas* et ceux de *Cystopus*, par exemple, germent directement en zoospores ; nous reviendrons d'ailleurs sur ce point du plus haut intérêt, à la fin de ce travail.

Nous devons maintenant signaler les divers travaux qui ont eu pour objet l'étude de la reproduction sexuelle des Basidiomycètes.

En 1874, l'Académie des sciences ayant mis la question au concours, Sicard avait cherché à établir que des corpuscules, regardés par lui comme des anthérozoïdes, sortent des cystides et vont féconder les basides (1).

Smith, dans un Mémoire sur la reproduction des Agaricinées, considère également les cystides comme des organes mâles donnant naissance à des anthérozoïdes :

(1) Consulter Duchartre : *Eléments de Botanique*, 2^e édition, 1887, p. 978.

ces derniers déverseraient leur substance dans les spores (1).

Ces idées ne reposaient sur aucune observation sérieuse.

L'étude du mycélium a paru un instant devoir conduire à de meilleurs résultats.

Dès 1861, Karsten étudiant le mycélium de l'*Agaricus campestris*, avait cru y rencontrer une fécondation, et, en 1867, il décrit et figure dans l'*Agaricus vaginatus* des organes sexuels (2). En 1865, Ersted avait exprimé des idées analogues sans les justifier suffisamment.

Max Rees publie, en 1875 (3), un Mémoire qu'il avait communiqué en décembre 1874 à la Société physico-médicale d'Erlangen : il expose les résultats qu'il a obtenus en cultivant le mycélium du *Coprinus stercorarius*. Les filaments issus des spores dans une décoction de fumier, ne tardent pas à se ramifier : sur certains rameaux qui se dirigent perpendiculairement à la direction générale, on voit se former un grand nombre de petites cellules que ce botaniste considérait comme des spermaties ou des pollinides jouant le rôle d'éléments mâles. L'organe femelle aurait été représenté par des groupements de trois cellules, riches en protoplasma et disposées en file : un des bâtonnets, en se fixant sur la cellule supérieure, produisait l'action fécondante ; sous cette influence, la cellule inférieure, se ramifiant, aurait été le point de départ du fruit ou carpogone.

Cette opinion est d'abord adoptée par Van Tieghem qui la complète et la modifie sous plusieurs rapports :

(1) G. Smith. Reproduction in the Mushroom tribe (*Gardeners' Chronicle*, 16 et 23 octobre 1875).

(2) Karsten. Zur Befruchtung der Pilze (*Bot. Unters.*, I, 1867, p. 160-169, Pl. IX, fig. 7-12).

(3) Max Rees. Ueber den Befruchtungsvorgang bei den Basidiomyceen (*Sitzungsb. d. phys. medik. Gesellschaft in Erlangen*, 1875).

ainsi le carpogone, d'abord unicellulaire, est formé par une cellule claviforme, terminée par une papille ; elle représenterait un trichogyne rudimentaire qui ne se cloisonne en trois cellules qu'après la fécondation (1). Mais ce savant reconnaît bientôt que les faits observés sont susceptibles d'une autre interprétation. Ayant obtenu la germination indépendante des bâtonnets des Coprins, il en conclut que ces organes ne sont pas des corpuscules fécondateurs, mais une espèce particulière de spores ; ce sont des conidies qui, en germant, sont susceptibles de s'anastomoser entre elles ou avec les filaments mycéliens qui sont au voisinage. Il réussit à obtenir des fruits de Coprins sur un mycélium où ne s'était produit aucun bâtonnet et dans des conditions où aucun bâtonnet n'avait pu s'introduire du dehors (2) ; il en résulte que le fruit des Coprins se forme sans fécondation.

A la suite de cultures portant non plus seulement sur des Coprins, mais aussi sur divers Agarics, Van Tieghem est très affirmatif : « Ni sur le mycélium, à la base du fruit primaire ou du sclérote, ni sur le fruit primaire ou sur le sclérote à la base du fruit secondaire, on n'observe un phénomène quelconque auquel on puisse reconnaître les caractères d'un acte sexuel. Il faut bien admettre par conséquent que les Agaricinées et sans doute avec elles tous les Basidiomycètes sont dépourvus de sexualité (3). »

Cette conclusion est celle que Brefeld formule également

(1) Van Tieghem. Sur la fécondation des Basidiomycètes (*Comptes rendus, Acad. Sciences*, 8 février 1875).

(2) Van Tieghem. Sur le développement du fruit des Coprins et la prétendue sexualité des Basidiomycètes (*Comptes rendus, Acad. Sciences*, 15 novembre 1875).

(3) Van Tieghem. Nouvelles observations sur le développement du fruit et sur la prétendue sexualité des Basidiomycètes et des Ascomycètes (*Bulletin, Société botanique de France*, 10 mars 1876, p. 103).

après avoir réussi à suivre le cycle complet du développement dans un grand nombre d'espèces (1).

Par des cultures méthodiques, par des expériences nombreuses, Brefeld pense être arrivé à démontrer d'une façon absolue l'absence de sexualité chez les Urédinées, Ustilaginées, Ascomycètes et Basidiomycètes; il considère ce résultat comme l'un des plus importants qui ait vu le jour dans l'étude des êtres organisés; l'existence d'un groupe entièrement dépourvu de sexualité, intéressant non seulement la Botanique, mais la morphologie tout entière (2).

C'est au moment où la non-sexualité des Champignons supérieurs est ainsi proclamée à la suite de recherches suivies, d'observations scrupuleuses, de méthodes perfectionnées et savantes que, brusquement, des recherches d'ordre différent amènent à une conclusion opposée. *La reproduction sexuelle existe chez les Champignons supérieurs, avec les caractères essentiels, fondamentaux, qui la caractérisent chez les êtres les plus élevés en organisation.*

Il ne reste plus à étudier, pour justifier cette conclusion générale, que le groupe des Basidiomycètes (3);

(1) Brefeld. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, VIII Heft: *Basidiomyceten* III, Leipzig, 1887.

(2) Ich glaube mich nicht zu irren, wenn ich annehme, das mit dem Nachweise dieser beiden Reihen, der sexuellen und der asexuellen Reihe, einer der wichtigsten und ersten Fortschritte gewonnen ist welche auf dem Gebiete der Morphologie und der Systematik der Pflanzen und der Gesamtheit der Lebewesen überhaupt möglich sind. Die Masse der Pilze, die bis dahin ungefüge und disharmonische Hälfte der Pflanzen, ist nun zu einem wesentlichen, harmonisch eingefügten Bestandtheile des Pflanzensystems geworden, und der Nachweis einer asexuellen Reihe der Lebewesen ist eine Bereicherung unserer morphologischen Kenntnisse im Allgemeinen, welche nicht mehr die Botanik allein, sondern die Gesamtheit der morphologischen Gebiete zugleich betrifft. (Brefeld, *loc. cit.*, p. 272.)

(3) Consulter les divers travaux déjà publiés dans le *Botaniste*, série 3 et série 4.

déjà, en ce qui concerne ces derniers, nous avons annoncé, dans une note préliminaire, que c'est la baside qui est le siège de la fécondation (1) ; plus récemment, au Congrès des Sociétés savantes, nous avons développé cette idée en l'appuyant sur des observations plus nombreuses. Le moment nous paraît venu de fixer ces résultats dans un Mémoire spécial.

Les Basidiomycètes se divisent en Protobasidiomycètes, dans lesquels la baside est cloisonnée, et Autobasidiomycètes, dans lesquels la baside reste simple ; nous commencerons tout naturellement par les premiers dont l'organisation est la plus simple.

PROTOBASIDIOMYCÈTES

Les Protobasidiomycètes se relient directement aux Urédinées par l'intermédiaire des *Coleosporium* ; la baside n'est qu'une téléutospore à germination immédiate ; elle reste unicellulaire avant et pendant la fécondation ; elle se cloisonne ensuite intérieurement comme la téléutospore des *Coleosporium*, au lieu de se cloisonner extérieurement dans un promycèle comme les autres Urédinées.

Brefeld donne des Protobasidiomycètes la classification suivante (2) :

1. Basides cloisonnées transversalement.	{	PILACRÉES.	Fructification angiocarpe, avec gléba, sans hyménium.
		AURICULARIÉES.	Fructification gymnocarpe. Basides réunies en couche superficielle hyméniale.
2. Basides cloisonnées longitudinalement.	{	TRÉMELLINÉES.	Fructification gymnocarpe. Basides réunies en couche superficielle hyméniale.

(1) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle chez les Basidiomycètes (*Le Botaniste*, 3^e fascicule, 25 janvier 1895).

(2) Brefeld. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, VIII Heft : *Basidiomyceten*, II, p. 27.

TRÉMELLINÉES

Ce groupe, dont Tulasne a eu le mérite de fixer les principaux caractères (1), est actuellement très bien connu grâce aux travaux de Brefeld (2); ce savant y distingue les genres *Exidia*, *Ulocolla*, *Craterocolla*, *Sebacina*, *Tremella*, *Gyrocephalus*; nous avons choisi pour la décrire histologiquement une espèce commune dans laquelle on peut, sans trop de difficultés, étudier les noyaux.

Tremella mesenterica Retz.

Cette espèce se développe pendant l'hiver sur les rameaux morts du chêne, du hêtre, etc.; son thalle se détache des crevasses de l'écorce et proémine au dehors en une masse gélatineuse, d'une belle couleur jaune d'or (fig. 1).

Certains individus ont une surface à lobes nombreux, à sillons peu profonds; chez d'autres, les lobes sont moins nombreux, les sillons plus profonds; ces différences d'aspect qui peuvent se rencontrer sur un même individu, correspondent à des différences de fructification; les premiers, qui sont généralement les plus jeunes, produisent des conidies presque exclusivement; chez les autres, on trouve en outre des basides.

Le thalle, chez les Trémelles, est constitué par des filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés qui sont

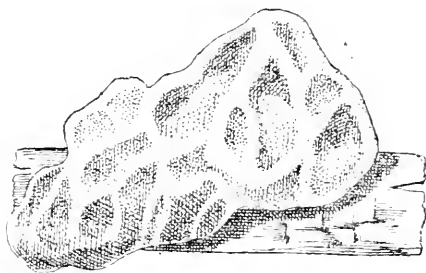


FIG. 1. — *Tremella mesenterica* Retz. — Thalle gélatineux développé sur du bois mort.

(1) Tulasne. Observations sur l'organisation des Trémellinées (*Ann. Sc. natur., Bot.*, t. XIX, 1853).

(2) Brefeld, *loc. cit.*

plongés dans une substance gélatineuse analogue à celle des nostocs : d'une manière générale, on peut y distinguer une couche médullaire et une couche corticale.

Dans la couche médullaire, souvent très épaisse, les filaments s'entrecroisent tout en conservant une direction générale parallèle à la surface : ils sont fréquemment très espacés les uns des autres. Les plus extérieurs se dirigent perpendiculairement à la surface en se ramifiant abondamment pour former la couche corticale ; nous étudierons séparément la structure propre à chacune de ces deux couches.

Dans la *couche médullaire*, les tubes mycéliens n'ont pas un diamètre uniforme ; ils sont cloisonnés en articles qui sont quelquefois d'une grande longueur ; dans les échantillons jeunes, ils sont pourvus d'un protoplasma granuleux : plus tard, beaucoup d'entre eux sont vides, le protoplasma s'étant porté dans la couche corticale. Chaque article renferme deux noyaux, rarement plus ; ces noyaux se voient facilement lorsqu'on a obtenu une bonne double coloration ; ils se détachent alors en rouge sur le fond bleu ou violet du protoplasma ; ils sont nucléolés ; leur diamètre est égal à celui des tubes les plus fins dont ils obstruent la cavité : ils sont séparés par un large intervalle ou disposés côte à côte. Les tubes contractent entre eux de nombreuses anastomoses et se ramifient çà et là, beaucoup moins cependant que dans la couche corticale.

La *couche corticale* a une épaisseur très variable ; réduite à sa plus simple expression, elle est constituée par des filaments qui viennent de la médulle et se disposent parallèlement sans présenter trace de fructification.

Quelquefois, ces filaments se ramifient en rameaux divergents et les articles terminaux s'isolent sous forme de cellules arrondies, plus grosses que les filaments eux-mêmes ; ces cellules ont une couche pariétale de proto-

plasma renfermant en général deux noyaux et entourant une vacuole ; les articles sous-jacents ont également deux noyaux ; mais le protoplasma y est beaucoup plus dense.

Nous arrivons, à partir de ces cellules, en passant

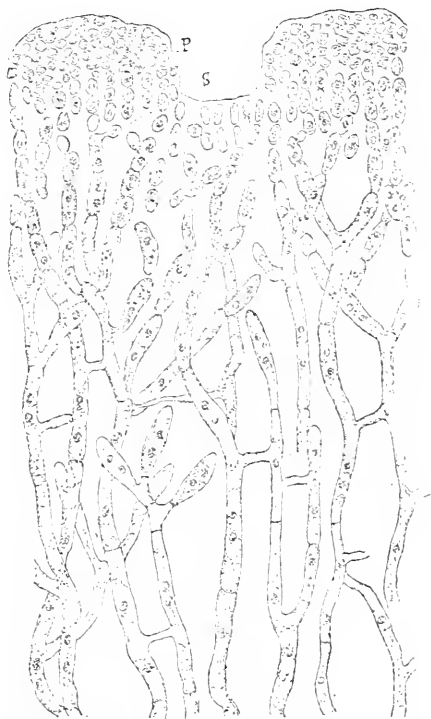


FIG. 2. — *Tremella mesenterica* Retz. — Section du thalle : formation des conidies. (Grossissement 900.)

par tous les intermédiaires à la formation normale des conidies que nous allons maintenant examiner.

Elle se produit sur les individus jeunes dont la surface est formée par des lobes nombreux séparés par des sillons peu profonds ; son étude, au point de vue histologique, n'est pas sans présenter de sérieuses difficultés.

Sur la section de l'un des lobes, on voit les filaments médullaires se redresser pour former la couche corticale :

des anastomoses transversales réunissent çà et là deux filaments. Les articles, d'abord assez longs, deviennent de plus en plus courts à mesure que le nombre des ramifications augmente en approchant de la surface ; tous ces articles ont deux noyaux et le protoplasma y est d'autant plus abondant et sensible aux réactifs que l'on s'éloigne de la médulle. Finalement, tous les rameaux très ramifiés en général, sont divisés en articles courts, elliptiques ou arrondis, disposés en chapelet (fig. 2) ; ils renferment un ou deux noyaux : chacun de ces articles se forme comme les spores de l'*Oïdium lactis*, par exemple ; mais ce n'est pas tout : chacun de ces articles peut bourgeonner à son tour ; on observe à sa surface une petite protubérance qui grossit (fig. 2, S) ; bientôt un des noyaux de l'article s'engage dans le court pédicelle du bourgeon ; il arrive à pénétrer à l'intérieur de cette conidie : les choses se passent comme chez les levures (1).

Ainsi se produit une quantité extraordinaire de conidies qui se pressent les unes contre les autres et restent englobées dans la substance gélatineuse du thalle.

Ces conidies forment fréquemment une couche très épaisse dans laquelle on distingue au moyen des doubles colorations plusieurs assises. Dans la plus externe, le contour des conidies est irrégulier, la membrane est fripée et teinte en jaune ; le protoplasma intérieur se colore en vert. Quelques-unes seulement montrent un noyau ; leur disposition est irrégulière, on dirait qu'elles n'ont plus pour la plupart leur vitalité. Dans l'assise moyenne, les conidies sont arrondies ; leur contour est net, leur teinte générale est rougeâtre ; le noyau y est visible au centre de la cellule ; elles sont encore sensi-

(1) P.-A. Dangeard. Sur la structure des Levures et leur développement (*Le Botaniste*, 3^e série, 6^e fascicule).

blement rangées en séries parallèles ; pour celles-ci, il n'y a aucun doute : elles sont non seulement bien vivantes, mais leur protoplasma est riche en substances nutritives. Dans l'assise interne, se trouvent les articles courts à un ou deux noyaux et aussi les conidies qui en proviennent par bourgeonnement ; les noyaux sont fort nets dans les belles préparations et de couleur rouge, alors que le protoplasma est bleu.

La production des conidies n'ayant pas toujours lieu avec la même intensité en tous les points, il en résulte une formation à la surface du thalle, de protubérances ou de papilles parfois assez développées (fig. 2, P).

Les conidies peuvent aussi se former plus profondément dans la couche corticale, suivant le même mode de production et avec les mêmes caractères.

Tulasne n'ayant pas réussi à observer la germination de ces conidies les considérait comme des corpuscules mâles, et il les désignait en conséquence sous le nom de spermaties (1).

Brefeld a réussi à obtenir la germination de ces conidies et nous indiquerons plus loin les particularités qu'elle présente.

La reproduction sexuelle succède en général à la fructification conidienne ; l'individu qui a produit des conidies se modifie, se renfle, devient plus gélatineux. Il faut ajouter que la formation des conidies peut non seulement se continuer en certains points du thalle, mais aussi accompagner la formation des basides.

Les basides naissent dans la couche corticale ; des filaments mycéliens fertiles viennent s'y ramifier à différents niveaux, et ce sont les extrémités de leurs rameaux qui se transforment en basides (fig. 3).

(1) Tulasne. Observations sur l'organisation des Trémellinées (*Annales des sciences natur., Bot.*, t. XIX, 1853, p. 197).

On distingue ces jeunes basides, au milieu des autres articles du thalle, d'abord à leur diamètre un peu supérieur aux autres articles du thalle, et surtout aux ca-

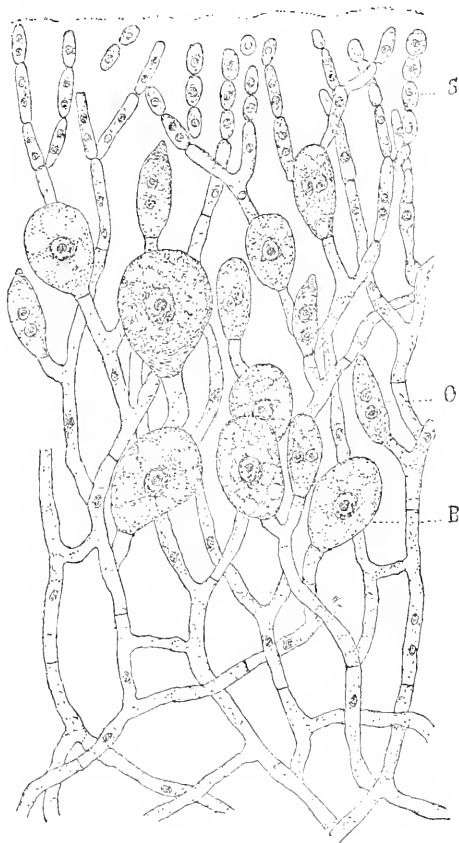


FIG. 3. — *Tremella mesenterica* Retz. — Formation des oospores à deux noyaux *O* ; *B*, la baside après la fusion des noyaux ; *S*, conidies. (Grossissement 900.)

ractères du protoplasma et des noyaux. Le protoplasma y est abondant et dense : il se colore fortement par les réactifs ; on voit qu'il y a accumulation à l'intérieur de ces organes de substances nutritives ; quant aux deux noyaux, ils ont une dimension supérieure à celles des

autres noyaux : le contour est plus net, le nucléole beaucoup plus gros (fig. 3, O).

Ces noyaux ressemblent tout à fait aux noyaux de l'oospore des Pézizes ; ils se comportent exactement de même. Mais tandis que chez les Pézizes il est facile de voir, d'après la marche que nous avons indiquée et les dessins que nous avons donnés, que les deux noyaux sexuels ont une origine différente, ici, il est beaucoup plus difficile de se prononcer ; nous n'avons pas réussi jusqu'à ce moment à établir leurs relations avec les noyaux sous-jacents du filament fertile.

La fusion des noyaux dans les basides se produit de très bonne heure : aussi faut-il choisir, pour l'étude de la fécondation, des échantillons qui ne l'ont que commencer à fructifier ; les noyaux se rapprochent au contact, mélangent leur substance, alors que les nucléoles se fondent en un seul. C'est après cette fusion que l'oospore grossit considérablement (fig. 3, B), le noyau sexuel unique en occupe le centre : il est devenu vésiculaire en subissant de son côté une augmentation notable de volume ; une membrane nucléaire très délicate l'entoure ; le nucléole est très gros et assez fréquemment excentrique ; dans le suc nucléaire se voient des granulations chromatiques qui, dans nos doubles colorations, se teignent en rouge comme le nucléole ; leur grosseur est variable, ainsi que leur nombre.

Le protoplasma qui entoure le noyau a une disposition réticulée, à mailles serrées : il renferme en quantité considérable une huile colorée en jaune orange, et dans les échantillons fixés et préparés, cette huile s'accumule souvent sous un point de la membrane.

La baside n'est autre chose qu'une oospore, et comme chez les Urédinées et les Ustilaginées, son protoplasma renfermant le noyau sexuel donnera naissance à un nombre déterminé de sporidies. La seule différence est celle-ci :

dans les deux premières familles, le protoplasma sort de l'oospore et forme un promycète cloisonné en quatre ou huit cellules; chez les Trémelies, le cloisonnement se produit également, mais à l'intérieur même de l'oospore. Les quatre cellules qui vont se former dans l'oospore correspondent donc aux quatre cellules d'un promycète, ce qui nous fait dire qu'ici le promycète est interne au lieu d'être externe.

Il n'échappera à personne que les phénomènes sont au fond identiques.

Le noyau sexuel de l'oospore subit deux bipartitions répétées; au stade deux, comme au stade quatre (fig. 4, B), nous trouvons ces noyaux avec une structure identique; ils sont vésiculeux avec une membrane nucléaire très délicate et des granulations chromatiques fines disposées quelquefois en réseau; leur nucléole est de moyenne grosseur; les phases de la division nous ont échappé, malgré une étude attentive d'un nombre considérable de préparations.

L'oospore s'étant divisée en quatre cellules par des cloisons longitudinales, chacune des cellules pousse un tube germinatif assez gros dans lequel le protoplasma devenu plus clair s'engage (fig. 4, F); le noyau suit, au bout de quelque temps, entraîné dans le mouvement général, et il change d'aspect; son nucléole est plus petit et il devient tout à fait excentrique, le plus souvent situé en avant de la masse nucléaire, quelquefois à l'arrière; la masse nucléaire qui semble s'être légèrement condensée, prend une forme allongée suivant l'axe du tube; les granulations chromatiques y sont nettement distinctes.

Le tube germinatif, dont le diamètre est loin d'être toujours régulier, finit par atteindre la surface du thalle: il donne naissance alors à un stérigmate conique qui se renfle en boule; tout d'abord le protoplasma qui passe dans le renflement est homogène; la sporidie a déjà atteint un cer-

tain volume lorsque le nucléole et la masse nucléaire passent dans le stérigmate; ils paraissent devenus indépendants (fig. 4, N).

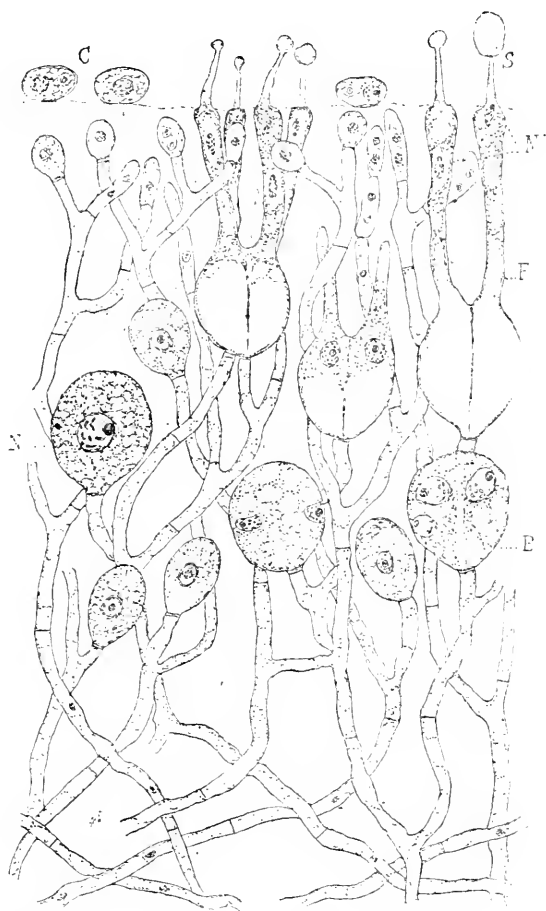


FIG. 4. — *Tremella mesenterica* Retz. — Germination des basides : N, noyau après la fécondation; F, filament germinatif renfermant les noyaux N'; S, sporidie au sommet du stérigmate; C, sporidie renfermant un noyau et un centrosome. (Grossissement 900.)

Les sporidies qui ont atteint leur grosseur normale, se détachent de leur pédicelle et s'accumulent à la surface du thalle (fig. 4, C); elles lui communiquent une teinte blan-

che qui est surtout sensible lorsque le Champignon commence à se dessécher.

Sous la membrane de la sporidie, le protoplasma est disposé en un fin réticule au milieu duquel se trouve le noyau; ce dernier a repris sa forme globuleuse, et on y distingue un nucléole excentrique et des granulations chromatiques comme dans les stades précédents; leur disposition n'a rien de régulier. Mais on rencontre en outre dans le protoplasma un corpuscule qui possède tous les caractères attribués aux centrosomes; il est exactement sphérique, sa substance est dense, homogène; il se colore en rouge comme le nucléole; de plus, il est entouré par une zone annulaire incolore.

La présence de ce corpuscule soulève certaines questions que nous ne pouvons actuellement résoudre. Nous avons vu que dans leur trajet au travers du tube germinatif et du stérigmate, la masse nucléaire et le nucléole devenaient indépendants; cette indépendance persiste-t-elle dans la conidie et le corpuscule n'est-il autre chose que le nucléole ancien ayant modifié légèrement son aspect? Dans ce cas, le nucléole qui se trouve à l'intérieur du noyau de la sporidie serait de nouvelle formation. Ou bien le nucléole ancien a-t-il simplement repris sa place à l'intérieur de la masse nucléaire? Dans ce cas, le corpuscule devrait être considéré comme ayant pris naissance au sein du protoplasma de la sporidie, à moins, toutefois, que sa présence ne m'ait échappé dans les stades précédents.

Ce centrosome est situé tantôt au voisinage immédiat du noyau, tantôt dans un point plus éloigné sous la membrane.

Quelques sporidies renferment deux noyaux; ce sont celles qui vont bourgeonner à la manière des levures.

La couche corticale, pendant la formation des oospores et leur germination, se montre sous différents aspects.

Nous avons vu que les oospores pouvaient coexister avec un appareil conidien normal; en général, les oospores sont seulement accompagnées de filaments qui vont se ramifier près de la surface en articles courts disposés en chapelets (fig. 4); les articles qui se détachent possèdent un ou deux noyaux; si ces articles sont renflés, on arrive à distinguer, dans les noyaux, les granulations chromatiques et le nucléole. Lors de la germination des oospores, on ne distingue plus guère finalement que les nombreux tubes germinatifs qui se portent vers la surface.

Brefeld a réussi à observer la germination des sporidies et des conidies proprement dites; il a établi qu'elles bourgeonnaient de la même façon que les levures; il a constaté toutefois, dans *Tremella lutescens*, quelques différences d'ordre physiologique entre les deux sortes de spores (1); les conidies ne bourgeonnent que pendant quelques générations et elles donnent naissance ensuite à un mycélium; les sporidies continuent à bourgeonner beaucoup plus longtemps avant de se développer en filaments. Ces différences peuvent être attribuées sans doute à la rénovation sexuelle dont les sporidies viennent d'être l'objet.

Nous allons maintenant étudier un genre qui établit la transition entre les Protobasidiomycètes et les Autobasidiomycètes: il s'agit du *Dacryomyces deliquescens* que nous avons récolté à la campagne aux vacances dernières.

AUTOBASIDIOMYCÈTES

Les autobasidiomycètes, qui comprennent toutes les espèces dans lesquelles les basides restent simples, sont divisés par Brefeld en trois groupes (2).

(1) Brefeld. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, VII Heft: *Basidiomyceten* II, p. 118.

(2) Brefeld, *loc. cit.*, VII Heft: *Basidiomyceten* II, p. 137-138.

A. Les formes gymnocarpes sont représentées par les Dacryomycétées, les Clavariées et les Théléphorées.

B. Les formes angiocarpes renferment les Tulostomées ou Lycoperdacées, les Hyménogastrées, les Nidulariées, les Phalloïdées.

C. Les hemiangiocarpes sont les Hydnées, les Agarici-nées et les Polyporées.

A

Le 1^{er} groupe se rattache directement aux Trémellinées par les Dacryomycétées : nous ne serons donc pas étonnés de retrouver dans cette famille des ressemblances étroites avec les Trémellinées.

DACRYOMYCÉTÉES

Cette famille est caractérisée par ses longues basides claviformes qui se bifurquent au sommet en deux longs stérigmates portant les spores. Elle renferme actuellement quatre genres : *Dacryomyces*, *Calocera*, *Guepinia* et *Dacryomitra* : nous étudierons les deux premiers.

1^o *Dacryomyces deliquescens* Bulliard.



FIG. 5. — *Dacryomyces deliquescens*
Bull — Thalle.

Cette espèce se développe fréquemment sur le bois mort : elle y forme de petites masses arrondies ou plissées de consistance gélatineuse, ce qui la fait ressembler à une petite Trémelle (fig. 5); on la trouve pendant tout l'hiver aux mêmes endroits, réduite à une mince croûte desséchée presque imperceptible pendant les périodes sèches, reprenant facilement sa consistance gélatineuse et son aspect normal pendant les périodes humides : sa couleur varie du jaune au rouge, en passant par les tons orangés. Tulasne a étudié ce *Dacryomyces* avec

beaucoup de soin : il a reconnu la véritable nature des basides qui était méconnue : il a vu comment ces basides germent et donnent naissance à deux sporidies qui se cloisonnent en quatre cellules ; chacune de ces cellules fournissant à son tour une quantité de sporidies secondaires. N'ayant pas réussi à observer la germination de ces dernières, Tulasnet tend à les considérer comme des spermaties.

Ce savant a reconnu en outre que le thalle de cette espèce se présentait sous des aspects différents qui correspondaient à une différence dans le mode de fructification ; ici, nous ne pouvons mieux faire que citer en entier la description qu'il en a donnée :

« On trouve assez souvent des individus de *D. deliques-cens* qui ont échangé leur couleur jaune ambrée pour une teinte plus foncée et rougeâtre, soit sur quelques points seulement de leur surface, soit uniformément sur toute son étendue. D'autres conservent pour une grande part leur coloration jaune ordinaire ; mais ils offrent çà et là de véritables taches d'une rouge orangé très vif ; ces taches sont très fréquemment à leur périphérie ; elles sont très circonscrites ou se nuancent insensiblement avec la teinte générale ambiante. Les espaces qui se signalent ainsi à l'attention de l'observateur, restent nus et ne changent point de couleur, tandis que partout ailleurs le champignon se couvre peu à peu d'une poussière abondante, formée de spores seulement ou à la fois de spores et de spermaties et qui modifie d'une façon appréciable, même à l'œil nu, tant sa teinte primitive que l'aspect de sa surface. Là où le tissu du *Dacryomyces* est devenu rouge, il est stérile ; ses filaments constitutifs, ordinairement incolores et presque vides de matières solides, se sont remplis d'un protoplasma très coloré ; ils sont d'une moins grande ténuité, plus irrégulièrement épais ; et enfin, au lieu de ne présenter que de rares cloisons et de rester continus, comme sur les autres points de la plante,

ils se morcellent en une infinité de tronçons, droits ou courbés, anguleux et de formes assez irrégulières. Ces filaments sont surtout ainsi dissociés vers la surface du champignon, où leurs éléments composent une sorte de pulpe dont la cohésion varie avec l'état sec ou humide de l'atmosphère. Il n'est en quelque sorte aucun organe du champignon qui, sur les points signalés par leur teinte rouge, soit exempt de la décomposition dont nous parlons; les basides, par exemple, se divisent également par des diaphragmes transversaux en plusieurs pièces cylindriques ou oblongues, qui finissent par devenir libres. Au moyen de préparations faites avec soin et sur des individus choisis, on arrive à se ménager la possibilité de voir sous le microscope la transition brusque ou insensible du tissu fertile du *Dacryomyces* au parenchyme rouge et dissocié que nous venons de décrire, de manière qu'il ne reste aucun doute dans l'esprit sur la réalité de la transformation du premier dans le second. La certitude de ce phénomène est surtout acquise quand on vient à rencontrer des basides fertiles et des basides à moitié transformées naissant ensemble de filaments, rouges et cloisonnés entièrement semblables à ceux de leurs voisins qui sont déjà désagrégés (1). Tulasne, outre ces individus mixtes, en a rencontré qui étaient exclusivement gemmipares; ces articles ayant plusieurs fois germé en produisant un filament mycélien, il les considère comme des gemmes ou conidies.

Il n'est pas difficile de reconnaître ici un cas complètement analogue à celui des Trémelles; certains individus ne possèdent que la fructification conidienne asexuelle, d'autres n'ont que la fructification sexuelle; quelques-uns présentent les deux à la fois.

Le thalle dans le *Dacryomyces deliquescens* est consti-

(1) Tulasne, *loc. cit.*, p. 216-218.

tué, comme celui des Trémelles, par des tubes mycéliens ramifiés et anastomosés entre eux ; ils sont cloisonnés en articles souvent très longs : ces articles renferment deux noyaux dans lesquels on peut quelquefois reconnaître le nucléole et les granulations chromatiques.

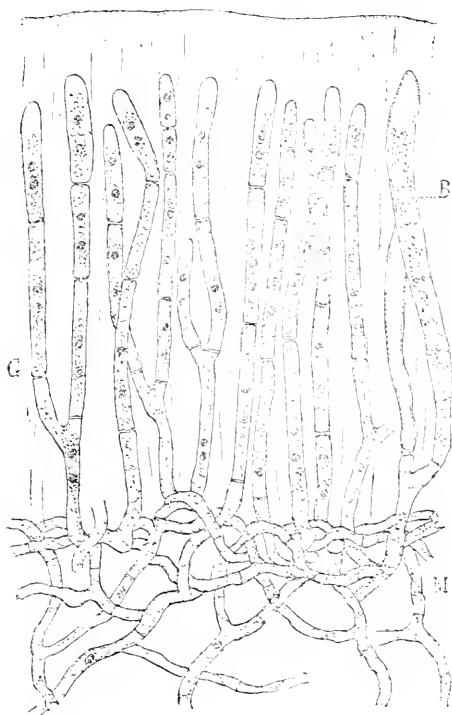


FIG. 6. — *Dacryomyces deliquescens* Bull. — Section du thalle montrant les longues conidies à deux noyaux, *G* ; *B*, baside ; *M*, mycélium. (Grossissement 900 environ.)

Les filaments conidifères occupent la couche corticale : ce sont des tubes mycéliens qui se dressent du stroma perpendiculairement à la surface en se ramifiant plus ou moins : leur diamètre est supérieur à celui des autres filaments du thalle : ils sont également plus riches en protoplasma et les articles sont beaucoup moins allongés ; chacun de ces articles possède deux noyaux. Je n'ai point

assisté à un état de dissociation plus avancé que celui qui est représenté fig. 6; mais nous sommes néanmoins autorisé à conclure en toute certitude que tout se passe exactement comme chez les Trémelles quant à la formation des conidies et à leur structure; seulement, tandis qu'ici les articles se fragmentent en conidies qui germent directement en un filament mycélien, chez les Trémelles, les conidies bourgeonnent comme les levures pendant plusieurs générations avant de reproduire un mycélium. A côté des filaments conidifères, on peut trouver des basides (fig. 6, B); mais rien n'autorise à penser que ces basides peuvent se fragmenter pour donner naissance à des conidies ainsi que l'admettait Tulasne.

La reproduction sexuelle offre les mêmes caractères généraux que chez les Trémelles; les jeunes basides qui naissent au nombre de deux ou trois sur le même filament, ont d'abord un faible diamètre, leur longueur étant déjà à peu près celle qu'elles auront plus tard. Ces basides renferment les deux noyaux sexuels; ces noyaux se rapprochent au contact et se fusionnent (fig. 7); il se produit alors des modifications importantes en rapport avec la fécondation.

La baside ou oospore augmente considérablement de volume; elle prend l'aspect claviforme qui lui est particulier; le protoplasma, de granuleux qu'il était, devient dense et homogène et il se charge de la substance colorée qui donne au thalle sa teinte générale; la partie antérieure de la baside reste incolore sur une certaine longueur. Pendant que ces changements ont lieu dans le protoplasma, le noyau sexuel augmente également de volume; il occupe le centre de la baside; on y distingue un gros nucléole, des granulations chromatiques et une membrane nucléaire (fig. 7).

Le noyau se divise alors en deux, peut-être par division indirecte; l'oospore se bifurque à son sommet en deux

branches qui s'atténuent graduellement, atteignent la surface du thalle et la dépassent quelque peu (fig. 7, F) : chacune de ces branches se renfle à son sommet et donne naissance à une sporidie qui est arquée, réniforme, au



FIG. 7. — *Dacryomyces deliquescens* Bull. — Section du thalle au niveau des basides ; M, mycélium ; B, basides ; F, filament germinatif ; S, sporidies. (Grossissement 500.)

lieu d'être arrondie comme chez la Trémelle mésentérique ; le passage du protoplasma et du noyau dans chaque sporidie a lieu comme dans cette dernière espèce.

Cette sporidie se comporte alors d'une manière remarquable (fig.) 7, S : elle se cloisonne en quatre cellules, et chacune de ces cellules donne naissance soit à un fila

ment germinatif, soit à des sporidies secondaires ; c'est Tulasne qui a eu le grand mérite d'élucider le mode de formation de ces sporidies secondaires ; mais les considérations qu'il a formulées sur leur nature n'ont plus aujourd'hui aucune valeur.

Brefeld a étudié à nouveau la germination des conidies et des sporidies (1), et il a heureusement complété sur ce point les observations de Tulasne.

Nous avons réussi à voir le noyau de la sporidie alors qu'elle est encore unicellulaire : ce noyau correspond à la tache centrale claire signalée par Brefeld : ce dernier a vu que la première cloison se forme lorsque cette vacuole se dédouble : il s'agit en réalité d'une bipartition du noyau primitif ; une nouvelle bipartition du noyau de chaque cellule est suivie de la formation d'une nouvelle cloison : la sporidie est alors cloisonnée en quatre loges ; sur ces loges se forment des spicules très fins, légèrement coniques ; ils se comportent comme des stérigmates, se renflent à leur sommet en une petite boule qui devient une sporidie secondaire : le noyau de la loge s'est divisé en deux, et c'est l'une des moitiés qui passe au travers du tube dans la sporidiole ; la même loge peut donner ainsi successivement naissance à un nombre assez grand de sporidioles.

Brefeld a fourni de nombreux renseignements sur la germination des sporidies, des sporidioles, des conidies et de l'appareil asexué que ce savant désigne sous le nom de gemmes.

Nous avons dit précédemment ce que nous pensions de ces gemmes : nous les considérons comme des conidies analogues à celles de *Oïdium lactis* ; elles font partie de la fructification asexuelle qui, existant normalement chez

(1) Brefeld, *loc. cit.*, p. 441-452.

les Protobasidiomycètes, diminue d'importance chez beaucoup de Basidiomycètes.

Les sporidies peuvent germer en filaments mycéliens qui se recouvrent de sporidioles, et ces sporidioles à leur tour, sans se cloisonner, fournissent d'autres sporidies secondaires ou des filaments mycéliens terminés par d'autres sporidioles : l'aspect de ces diverses germinations est susceptible de varier avec la nature ou la concentration du milieu de culture.

Les conidies ou « gemmes » donnent d'abord naissance à un mycélium qui se recouvre plus tard de conidies secondaires.

2° *Calocera viscosa* Pers.

Cette espèce a le port d'une clavaire : on la rencontre abondamment sur le bois mort des Conifères : elle n'a pas la nature gélatineuse d'une Trémelle ou d'un *Dacryomyces* : son tissu est de consistance cornée.

Le thalle est ramifié en dichotomies successives dont les supérieures restent courtes et aplaties (fig. 8); l'hyménium recouvre sa surface presque jusqu'à la base et on n'y distingue pas une partie fertile et une partie stérile d'aspect différent comme chez les deux genres voisins *Guepinia* et *Dacryomitra*.

Le tissu du thalle est beaucoup plus différencié que dans les espèces étudiées précédemment. Le centre est occupé par des tubes à diamètre très petit qui sont étroitement rapprochés les uns des autres; ils ont une direction parallèle à l'axe et leur ensemble forme une médulle nettement délimitée (fig. 9, M);

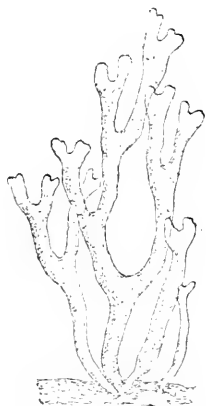


FIG. 8. — *Calocera viscosa* Pers. — Thalle ramifié en dichotomie.

tout autour s'étend une zone large dans laquelle les tubes également parallèles à l'axe sont largement espacés surtout vers le centre, où leur diamètre est aussi plus large

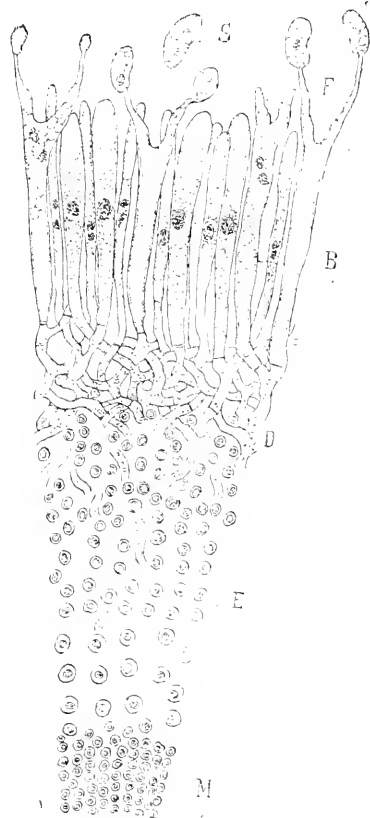


FIG. 9. — *Calocera viscosa* Pers. — Section transversale d'un rameau ; *M*, médulle ; *E*, anneau entourant la médulle ; *D*, stroma sous-hyménial ; *B*, couche de basides ; *F*, filament germinatif ; *S*, sporidie.

(fig. 9, E) ; les filaments les plus extérieurs de cette zone se portent obliquement vers la surface en donnant un grand nombre de ramifications qui constituent la couche sous-hyméniale (fig. 9, D) ; cette dernière supporte l'hyménium, c'est-à-dire les basides.

L'étude histologique de cette espèce présente de sérieuses difficultés, la masse incolore dans laquelle sont plongés les éléments mycéliens étant très compacte et s'opposant à la pénétration des réactifs.

On peut s'assurer néanmoins que la plupart des articles ont deux noyaux ; quelques-uns en ont trois ou quatre ; ces articles sont en général très longs dans la médulle et dans la zone qui l'entoure ; ils sont beaucoup plus courts dans la couche sous-hyméniale. On trouve

de nombreuses anastomoses entre filaments un peu partout.

Les basides proviennent de la couche sous-hyméniale ;

elles ressemblent à celles des *Dacryomyces*, tout en étant d'un diamètre plus faible. La fécondation s'y opère comme dans ce dernier genre : les deux noyaux de la baside se fusionnent en un noyau sexuel qui augmente de volume et se divise plus tard en deux (fig. 9, B). Ces basides se bifurquent à leur sommet et chaque branche effilée (fig. 9, F) porte une spore dans laquelle s'engage un des noyaux ; il n'existe pas de couche gélatineuse séparant la couche des basides de l'extérieur : aussi la surface du thalle est-elle un peu rugueuse.

Le noyau dans cette espèce est nucléolé : il possède une membrane nucléaire et des granulations chromatiques : mais cette structure ne peut guère s'apercevoir que dans le gros noyau sexuel de l'oospore et encore faut-il employer de préférence pour cette recherche l'hématoxyline au phénol.

Les sporidies sont réniformes et se cloisonnent seulement en deux cellules ; leur longueur est de 15 μ sur 6 μ de largeur.

Brefeld a décrit leur mode de germination dans l'eau et dans les milieux nutritifs (1) ; elles peuvent produire soit directement, soit sur des filaments mycéliens, un grand nombre de sporidioles groupées en bouquets.

Il est à remarquer que l'on ne connaît pas, dans ce genre, d'appareil conidien analogue à celui des *Tremella* et des *Dacryomyces*.

Au-dessus des *Dacryomycétées*, on trouve les *Clavariées* et les *Théléphorées* qui conduisent progressivement aux *Basidiomycètes* supérieurs ; la baside se raccourcit, la structure gélatineuse disparaît ; le thalle prend une forme déterminée dans chaque espèce, l'hyménium tend à occuper une position fixe. Tandis que les *Clava-*

(1) Brefeld, *loc. cit.*, p. 167.

riées sont peu différenciées morphologiquement et ne s'éloignent que faiblement des *Calocera*, les Théléphorées au contraire montrent des formes très différentes.

THÉLÉPHORÉES

Dans cette famille, le thalle est cyatiforme (*Cyphella*) ou étalé en lame coriace (*Stereum*); il peut se ramifier à la façon de certaines Clavaires (*Thelephora*, sp.), ou bien encore s'élargir à la partie supérieure en trompette (*Craterellus*) : l'hyménium occupe toujours la face inférieure, sauf dans les formes verticales de certaines espèces de *Thelephora*, où il entoure complètement les rameaux.

Nous n'étudierons qu'une seule espèce dans ce groupe : elle est intéressante en ce qu'elle appartient à un genre qui, par l'intermédiaire des Chanterelles, conduit aux Agaricinées ; les lamelles hyméniales à peine indiquées s'accusent davantage dans les *Cantharellus* et atteignent chez les Agarics leur développement complet.

Craterellus sinuosus Fr.

Cette espèce se développe sur la terre dans les bois de chêne (1). L'hyménium occupe la face inférieure du chapeau qui est parcourue par des veines peu proéminentes, s'étendant à quelque distance sur le pied. Les jeunes basides sont cylindriques et relativement assez grosses : elles renferment deux petits noyaux nucléolés ; dans ces noyaux, on distingue un nucléole, fréquemment excentrique et une masse nucléaire qui se teint facilement et montre des granulations chromatiques disposées régulièrement : ces noyaux se rapprochent au contact pour la fusion, les nucléoles étant côte à côte ou occupant deux points opposés (fig. 10). Le noyau sexuel qui en

(1) M. Boudier, le savant mycologue de Montmorency, a bien voulu nous déterminer cette espèce.

provient augmente de volume, devient vésiculeux : la baside grossit également et elle s'allonge en même temps au-dessus du niveau général.

La formation des stérigmates et des sporidies ne m'a rien montré de particulier (fig. 10) ; nous constatons seulement que les basides possèdent quatre stérigmates ;



FIG. 10. — *Craterellus sinuosus* Fr. — B, aspect du champignon ; M, structure de l'hyménium. (Grossissement 800.)

elles en ont quatre également dans le *Craterellus clavatus*, d'après Fayod (1).

Ce fait est digne de remarque, parce que le *Craterellus cornucopioides* souvent choisi comme type du genre, en possède seulement deux.

Rosenvinge qui l'a étudiée histologiquement (2) a trouvé que le noyau de la baside se divisait en quatre, chaque spore en recevant deux.

Dans le *Craterellus sinuatus*, le noyau de la baside se

(1) V. Fayod. Prodrôme d'une histoire naturelle des Agaricinées. (*Ann. sc. nat.*, 7^e série, t. IX, 1889, p. 303.)

(2) Rosenvinge. Sur les noyaux des Hyménomycètes. (*An. sc. nat.*, 7^e série, t. III, 1886, p. 88.)

divise aussi en quatre : mais comme il y a quatre spores, chacune d'elles ne reçoit qu'un noyau.

B

Les formes angiocarpes renferment les Tulostomées ou Lycoperdacées, les Hyménogastrées, les Nidulariées et les Phalloïdées : on admet que ces différents groupes descendent des Pilacrées parmi les Protobasidiomycètes.

Les *Pilacre* ont en effet leur tissu sporifère séparé de l'extérieur par un péridium ; ils offrent à un autre point de vue un grand intérêt. Brefeld a montré qu'il existait dans ce genre des thalles exclusivement conidifères ; on en rencontre également dans les *Tremella* et les *Dacryomyces*. Ces formations représentent la fructification asexuelle qui existe chez la plupart des algues et des champignons.

Chez les *Pilacre*, la baside portant les sporidies ne diffère que peu des filaments portant les conidies ; j'aurais pris grand intérêt à déterminer leur structure histologique ; mais les deux espèces connues dans ce genre sont rares et il ne m'a pas été donné jusqu'ici de les rencontrer. Il est néanmoins facile de prévoir que la baside se comporte comme partout ailleurs : elle ne se cloisonne en quatre cellules pour former les sporidies qu'à la suite d'une fécondation qui se produit à son intérieur ; on peut ajouter que la production des conidies n'est sûrement précédée d'aucun phénomène de cette nature.

BOVISTÉES

Nous avons recueilli un certain nombre d'espèces appartenant aux genres *Scleroderma*, *Lycoperdon*, *Bovista* ;

dans une seule, l'hyménium était à l'état voulu pour l'examen des phénomènes de reproduction.

Bovista plumbea Pers.

Cette espèce est voisine du *Bovista nigrescens* dont elle partage la structure générale. Le péridium est double ; l'externe est constitué par un tissu de pseudo-parenchyme à éléments larges dont les extérieurs se prolongent en groupes formant de courtes lanières ; les noyaux

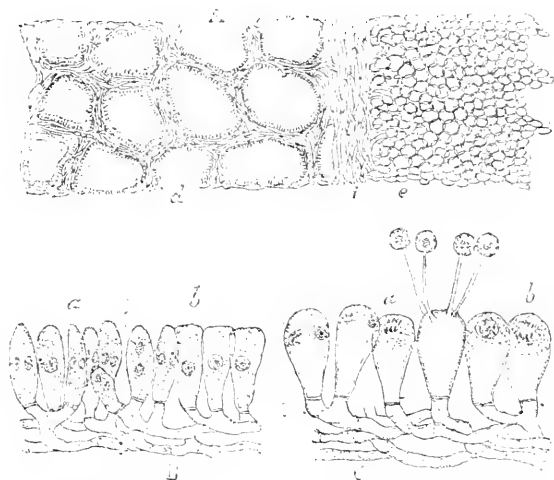


FIG. 11. — *Bovista plumbea* Pers. — A, section du fruit jeune à un faible grossissement: e, couche externe du péridium; i, couche interne; d, gléba; B, jeunes basides; C, germination des basides.

y disparaissent de très bonne heure, ce qui est en rapport avec le caractère de fugacité de cette première enveloppe. La seconde, beaucoup moins épaisse, est formée de tubes mycéliens étroits, entrecroisés en direction tangentielle ; ils renferment des noyaux : cette seconde couche est persistante jusqu'à la maturité et sa couleur devient gris de plomb ou gris bleuâtre (fig. 11, A).

La partie fructifère ou *gléba* est creusée d'une quantité de chambres qui sont tapissées par l'hyménium (fig. 11, A).

Si nous examinons maintenant une de ces cloisons en particulier, nous voyons que le centre en est occupé par des filaments à peu près parallèles ; les plus extérieurs de l'un et l'autre côté se redressent en se ramifiant perpendiculairement à la cloison ; les rameaux sont autant de basides dont chacune renferme dès le *début* deux noyaux ; ces noyaux se placent transversalement l'un à côté de l'autre ; quelquefois cependant, ils sont l'un au-dessus de l'autre ; ils ont la structure ordinaire ; leur nucléole est cependant très petit, ainsi que les granulations chromatiques qui l'entourent (fig. 11, B).

Dans de bonnes préparations, on peut arriver à rencontrer des parties d'hyménium où toutes les basides qui viennent de se former ont deux noyaux ; en d'autres points, la fusion est opérée et la baside ne possède plus qu'un seul noyau sexuel provenant de la fusion : il occupe le milieu de cette baside ou son tiers supérieur (fig. 11, B.)

La baside augmente de volume : elle se renfle à son extrémité et développe quatre stérigmates très fins et très longs : le noyau sexuel pendant ce temps a pris une apparence vésiculeuse et a grossi : il subit au sommet de la baside deux bipartitions successives. On éprouve quelque difficulté à se prononcer lorsqu'il s'agit de noyaux aussi petits que ceux-ci ; cependant, d'après les aspects que nous avons vus et que nous reproduisons (fig. 11, C), il semble que la division est indirecte.

Les quatre stérigmates se renflent en sphère à leur extrémité : chaque sporidie reçoit de la baside un noyau qui traverse le stérigmate.

En résumé, la reproduction sexuelle se fait ici comme dans les espèces précédentes ; il en est certainement de même dans les autres formes angiocarpes.

C

Il nous reste à examiner les champignons hemiangiocarpes représentés par les Agaricinées, Hydnacées, Polyporées ; nous savons que parmi les Théléphorées les *Stereum* conduisent directement aux Hydnacées et Polyporées, alors que les *Craterellus* mènent aux Agaricinées.

AGARICINÉES.

Dans les Agaricinées, les basides sont portées sur des lamelles rayonnantes placées sous le chapeau. Le nombre des genres et des espèces est considérable : leur structure générale a été récemment exposée par V. Fayod (1) ; leur structure histologique a été d'autre part l'objet de plusieurs travaux récents.

En 1884, Strasburger, grâce à l'emploi de l'hématoxyline, rencontre des noyaux dans les cellules du pied de plusieurs *Psalliota* et *Amanita*. Dans la baside de ces mêmes genres et chez les *Russula*, il constate que la baside contient un seul noyau qui subit trois bipartitions successives : les spores reçoivent chacune deux noyaux (2).

Rosenvinge, dans un mémoire remarquable, étend beaucoup ces premiers renseignements (3).

Toutes les cellules des Hyménomycètes contiennent des noyaux. Parfois, mais rarement, le protoplasma et les noyaux disparaissent dans certaines cellules (*Polyporus sulphureus*).

(1) V. Fayod. Prodrôme d'une histoire naturelle des Agaricinées (*Annales des sc. nat.*, 7^e série, t. IX, 1889). L'auteur utilise, dans ce travail, outre ses nombreuses observations personnelles, les résultats des travaux de Boudier, J. de Seynes, Patouillard, etc.

(2) Strasburger. *Das botanische Practicum*, Iéna, 1884, p. 324 et 427.

(3) Rosenvinge. Sur les noyaux des Hyménomycètes (*Ann. sc. naturelles. Bot.*, tome III, 1886, p. 75-91).

Les noyaux sont uniques ou multiples dans chaque cellule; dans les cellules des hyphes ordinaires, on trouve généralement plusieurs noyaux à l'état adulte; dans les jeunes cellules, il y en a probablement un seul, du moins chez quelques espèces. Dans les jeunes basides, il y a toujours un seul noyau.

On observe quelquefois un nucléole, surtout dans les noyaux des basides. Chez quelques genres, les noyaux ont une apparence vésiculeuse, la chromatine s'accumulant à la périphérie du noyau.

Quant au mode de division, Rosenvinge n'a trouvé que dans la baside du *Tricholoma virgatum* une indication d'une division indirecte.

Le noyau de la baside se divise de manière à former quatre ou huit noyaux. Ils sont alors en même nombre ou en nombre double de celui des spores qui se sont formées en même temps.

Le protoplasma et les noyaux sortent de la baside et passent dans les spores qui reçoivent ainsi chacune un ou deux noyaux.

Si la spore reçoit un seul noyau, le diamètre de ce dernier peut dépasser beaucoup celui du stérigmate. Le noyau accommode alors sa forme à celle du stérigmate, sa masse étant très molle et plastique.

Rosen complète heureusement ces résultats sur plusieurs points (1); ainsi, il reconnaît que la jeune baside de *Lepiota mucida* possède deux noyaux accouplés (2).

(1) Rosen. Studien über die Kerne und die Membranbildung bei Myxomyceten und Pilze (*Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, Bd. V).

(2) Die Kerne derselben, schon viel stattlicher als die der vegetativen Hyphen, liegen fast immer paarweise zusammen; sie weisen einen grossen Nucleolus und ein wirres Häufchen Chromatin, eine Kernwand ist nicht deutlich. Man würde Bilder wie das in fig. 27 angedeutete, für Studien der Kerntheilung halten, wenn dem nicht die folgende Erwägung entgegenstände (Rosen, *loc. cit.*, p. 260).

Cette apparence pourrait faire croire à une division ; mais les stades qui suivent ne laissent aucun doute, car on voit les basides plus âgées ne posséder qu'un seul noyau : ce noyau a un gros nucléole. Rosen est porté à considérer les noyaux des basides comme résultant d'une fusion de 6 à 8 petits noyaux qu'il aurait vus dans les jeunes hyphes hyméniales ; toutefois ayant étudié, pour éclaircir ce point, les basides du *Psalliota campestris*, il a rencontré dans celles-ci les deux noyaux accouplés, mais les basides étaient séparées des hyphes hyméniales par une cloison. Il n'ose donc se prononcer.

La fusion de deux noyaux en un seul a été vue par Wager dans les jeunes basides d'*Agaricus stercorarius* et l'auteur représente la structure des noyaux avec beaucoup de soin (1).

Il m'a paru inutile de reprendre en détail l'étude de ces exemples après tout ce que nous avons vu chez les Trémellinées, les Dacryomycétées, les Théléphorées et les Bovistées : je me suis borné à quelques vérifications rapides sur des Coprins, sur une Lépiote et une Russule ; il est hors de doute que la jeune baside possède toujours deux noyaux sexuels, et nous savons comment se comporte l'unique noyau provenant de la fusion.

Outre les basidiospores, les conidies et les gemmes, un certain nombre d'Agaricinées possèdent des chlamydospores (2) : celles des *Nyctalis* sont connues depuis longtemps ; elles ont donné lieu à d'importants travaux : il n'était pas inutile de fixer leur structure histologique.

GENRE NYCTALIS

Les *Nyctalis* sont des Agaricinées qui vivent en parasites sur d'autres champignons ; ce genre renferme un

(1) Wager. On the nuclei of the Hymenomycetes (*Annals of Botany*, vol. VI, 1892).

(2) V. Fayod, *loc. cit.*, p. 273-274.

petit nombre d'espèces dont deux sont particulièrement intéressantes ; on les rencontre à l'automne sur les Russules pourrissantes : le *Nyctalis asterophora* possède des chlamydospores étoilées ; le *Nyctalis parasitica* des chlamydospores lisses.

On a longtemps discuté pour savoir si elles représentaient une fructification de nature parasitaire ou une formation de spores appartenant en propre au champignon lui-même.

Krombholz se prononce pour cette dernière opinion qu'il appuie sur l'expérience suivante (1) : il sème des chlamydospores sur un chapeau de *Russula adusta* ; neuf jours après, on apercevait déjà, à l'endroit du semis, les jeunes chapeaux du *Nyctalis* : ces derniers, au bout d'une vingtaine de jours, avaient atteint leur complet développement et ils présentaient une abondante production de chlamydospores.

Cette expérience, malgré son intérêt, n'était pas concluante, car des spores du *Nyctalis* pouvaient s'être trouvées mélangées aux chlamydospores dans la culture ; aussi n'empêche-t-elle pas plusieurs mycologues de conclure au parasitisme de ces formations.

Cependant de Bary se rallie à l'opinion de Krombholz, et les chlamydospores ne sont pour lui qu'un second appareil de reproduction des *Nyctalis* (2) ; il reconnaît que leur présence entraîne la disparition complète ou partielle du mode de reproduction normal ; mais il pense avoir constaté une continuité directe entre le tissu qui les produit et celui du chapeau. Dans ces conditions, bien que ces spores soient comparables à celles des *Sepedonium* et autres champignons fongicoles analogues, nette-

(1) Krombholz. *Essbare Schwämme*, Heft I, p. 5.

(2) De Bary. Zur Kenntniss einiger Agaricinen (*Bot. Zeitung*, 1859).

ment parasites, de Bary les regarde comme appartenant aux *Nyctalis*.

Ce n'est pas l'avis de Tulasne, qui se prononce nettement pour le parasitisme (1); il va même beaucoup plus loin, puisqu'il rapporte ces productions aux Sphéries du genre *Hypomyces*; l'*Agaricus* (*Nyctalis*) *parasiticus* se trouverait ainsi avoir deux parasites différents : *Hypomyces asterophorus* et *H. Baryanus* (2).

De Bary plus récemment constate que jamais on n'a rencontré un *Agaricus parasiticus* sans chlamydospores (3), que la structure si différente du chapeau chez le *Nyctalis asterophora* et le *Nyctalis parasitica* ne permet pas d'y voir, selon l'opinion de Tulasne, une seule forme (*A. parasiticus*) modifiée par deux parasites différents.

J. de Seynes, à qui l'on doit de connaître la production de conidies chez un grand nombre de Polyporées, les a comparées à celles du *Nyctalis parasitica* (4); il a vu chez ce dernier champignon les chlamydospores « apparaître dans le pédicule à des hauteurs variables, augmenter en nombre dans l'épanouissement des fibres cellulaires formant le chapeau, suivre toutes les courbures de ces cellules jusque dans les lamelles où elles fourmillent »; il conclut en constatant que les *Nyctalis* sont des Agaricinées, chez lesquels une production exubérante de conidies ou de chlamydospores précède, diminue et quelquefois empêche complètement le développement des basides et dans ce cas supplée à l'absence de spores; c'est aussi l'avis de Vuillemin (5).

C'est à Brefeld que revient l'honneur d'avoir rendu

(1) Tulasne. Sphéries fongicoles (*Ann. sc. natur.*, 4^e série, t. XIII, 1860).

(2) Tulasne. *Selecta Fungorum Carpologia*, III, p. 54-59.

(3) De Bary. *Morphologie und Biol. der Pilze*, 1884, p. 361.

(4) J. de Seynes. Recherches pour servir à l'histoire naturelle des végétaux inférieurs, II, *Polypores*, 1888, p. 51-52.

(5) Vuillemin. *Études biologiques sur les champignons*, Nancy.

désormais impossible toute discussion sur la nature des chlamydospores (1) : prenant comme point de départ la basidiospore des *Nyctalis*, il a réussi à la faire germer dans un liquide nourricier : ce liquide obtenu par cuisson de tranches de Russules, desséchées préalablement, est éminemment favorable au développement des basidiospores ; les jeunes germinations ne tardent pas à développer de nombreuses conidies, dont les unes rappellent celles des *Oïdium*, alors que les autres sont des chlamydospores en tout semblables à celles qui se développent sur le chapeau des *Nyctalis* ; les unes et les autres peuvent se trouver réunies sur une même germination de basidiospore. Dans quelques-unes de ces cultures, Brefeld a obtenu le développement des chapeaux du *Nyctalis*, et ces chapeaux se sont couverts de chlamydospores ; il restait à observer leur germination.

On l'obtient très facilement en répétant l'expérience de Krombholz ; sur le tissu des Russules, ces chlamydospores ne tardent pas à émettre un filament germinatif qui se cloisonne et se ramifie : au bout d'une douzaine de jours, on aperçoit déjà l'ébauche des fruits du *Nyctalis*.

Après le travail magistral de Brefeld, la question des *Nyctalis* pouvait paraître épuisée : il nous reste cependant à faire connaître quelques résultats nouveaux.

Sur le chapeau des Russules, on trouve des *Nyctalis* à tous les états de développement ; ils sont d'abord globuleux, à surface lisse et blanche ; ils deviennent hémisphériques. Dans les plus gros, le chapeau s'étale et montre, en dessous, des lamelles épaisses ramifiées dichotomiquement ; beaucoup d'individus restent petits et atrophiés (fig. 12, A).

La surface du chapeau, qui est d'abord blanche, se

(1) Brefeld. Untersuchungen aus dem Gesamm. der Mykologie, Heft VIII, *Basidiomyceten*, III, Leipzig, 1889.

modifie, elle se colore en jaune-brun ; se détache par laminières, laissant à nu une poussière abondante, de couleur rouille, formée par les chlamydospores ; cette poussière rappelle celle qui est produite par un *Ustilago* ou par un *Lycoperdon*.

Pour suivre le mode de formation des chlamydospores et pour étudier leur structure, j'ai employé concurremment les colorations à l'hématoxyline et les doubles colorations sur le *Nyctalis asterophora*.

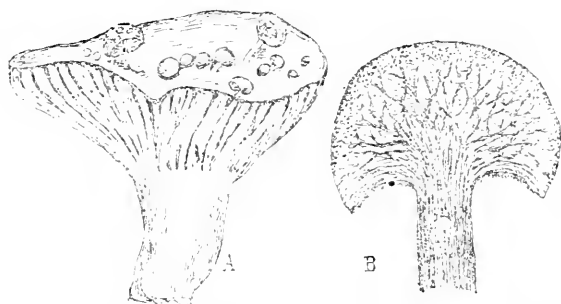


FIG. 12. — *Nyctalis parasitica* Bull. — A. Développement du *Nyctalis* sur le chapeau d'une Russale ; B, Section longitudinale du chapeau du *Nyctalis*.

Avec les doubles colorations, on distingue nettement deux tissus d'aspect différent ; l'un est formé par des filaments mycéliens larges, à teinte rose, à peu près entièrement dépourvus de protoplasma, les articles sont longs : ce tissu, que nous pouvons appeler tissu stérile, s'étend dans le pied, où les filaments mycéliens sont parallèles, et à la base du chapeau ; plus haut, ce tissu cesse d'être homogène ; il ne forme plus que des trainées irrégulières, limitant des espaces lacuneux (fig. 12, B) ; c'est dans ces sortes de lacunes que nous trouvons le tissu fertile, celui qui donne naissance aux chlamydospores ; ce tissu fertile se distingue du précédent par sa teinte bleue dans les doubles colorations : de plus, les filaments mycéliens fertiles sont dirigés dans tous les sens, au lieu d'af-

fecter une direction parallèle comme cela a lieu dans le tissu stérile; enfin, ces filaments possèdent du protoplasma et des noyaux.

Le tissu fertile et le tissu stérile sont naturellement en communication directe ; mais je pense que la continuité

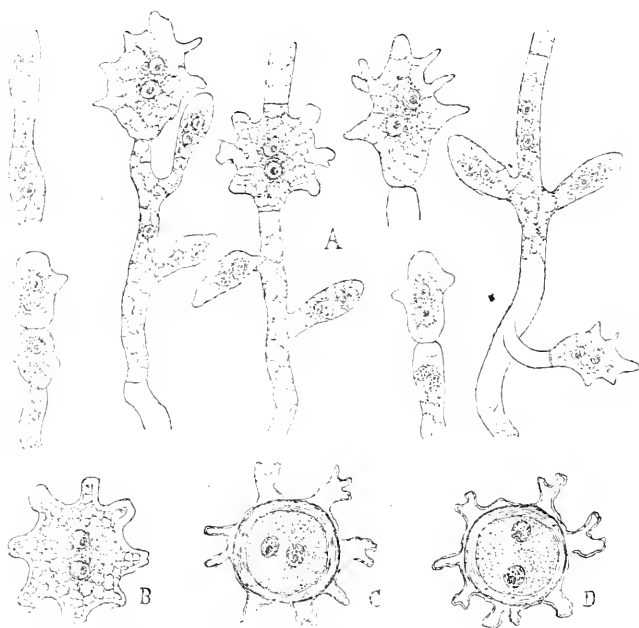


FIG. 13. — *Nyctalis parasitica* Bull. — A. Développement des chlamydospores ; B. Chlamydospore plus âgée ; C. D. Chlamydospores après plusieurs mois. (Grossissement 900.)

des tissus, invoquée par de Bary en faveur de son opinion, eût seule été insuffisante, au moins en ce qui concerne cette espèce. La production centripète des chlamydospores, la différence d'aspect du tissu fertile et du tissu stérile s'appliqueraient aussi bien à une formation parasite qu'à une formation autonome ; au moment où elle a été formulée, l'opinion de Tulasne était peut-être la plus vraisemblable.

Lorsqu'il n'y a pas atrophie des lames fructifères, on

peut observer à la face inférieure du chapeau l'existence d'un hyménium portant des basides, et ces basides donnent des spores au nombre de quatre : les noyaux y sont beaucoup plus petits que dans les chlamydospores.

Il n'est pas aussi facile qu'on pourrait le croire de suivre sur une certaine longueur les filaments mycéliens du tissu fertile.

La formation des chlamydospores rappelle un peu celle des oospores chez les Ustilaginées ; les filaments mycéliens produisent un grand nombre de rameaux latéraux qui forment une cloison à leur base et deviennent des chlamydospores : ces dernières peuvent être également terminales ou intercalaires.

Les chlamydospores, dès leur naissance, possèdent deux noyaux et on peut résumer leur mode de formation de la manière suivante : dans le tissu fertile, il se produit de nombreux groupements de deux noyaux, soit le long des filaments mycéliens, soit à leur partie terminale, soit enfin sur de courts rameaux : autour de chacun de ces groupements, une chlamydospore s'organise (fig. 13, A) ; on voit la membrane se couvrir de proéminences aiguës ou obtuses, quelquefois rameuses ou irrégulièrement dichotomes : le protoplasma y pénètre : la chlamydospore prend ainsi un aspect étoilé ; son contour est sphérique ou ovale : au milieu du protoplasma vacuolaire se trouvent les deux noyaux ; ils sont nucléolés, et le nucléole assez gros, dense, se colore fortement ; lorsque les préparations sont bonnes, on aperçoit quelques granules chromatiques dans le suc nucléaire entre la membrane et le nucléole.

Le protoplasma devient de plus en plus abondant : il forme un réseau à mailles serrées : il se retire alors des prolongements étoilés et s'entoure d'une membrane très épaisse, à stries concentriques ; c'est une sorte de kyste à membrane propre très épaisse, limité extérieurement

par la paroi étoilée de l'article où il a pris naissance ; les noyaux n'ont à ce moment subi d'autre modification qu'une légère augmentation de volume (fig. 13, B, C, D).

L'aspect particulier des chlamydospores, la présence constante à leur intérieur, dès leur naissance, de deux noyaux, nous faisaient un devoir de rechercher si ces deux noyaux ne se fusionnaient point à un moment donné ; en réalité, la chose nous eût surpris, attendu que, chez les Basidiomycètes, c'est à l'intérieur de la baside que s'opère la fécondation ; cependant, il fallait s'en assurer.

Il nous était facile de voir que si une fusion des noyaux se produisait, elle était très tardive, contrairement à ce qui existe dans les oospores des Ustilaginées, des Urédinées, des Ascomycètes et des Basidiomycètes ; mais on sait que, chez certaines conjugées, la fusion des noyaux ne précède que de très peu la germination de l'œuf, et il pouvait en être ainsi dans ces chlamydospores.

Nous avons conservé ces chlamydospores tout un hiver et nous les avons étudiées en mai dernier ; les deux noyaux, sans aucune exception, étaient complètement distincts au sein du protoplasma ; ces formations ne sont donc pas des oospores.

Il eût été bien intéressant de pouvoir à ce moment obtenir leur germination : je n'ai pas été plus heureux que Brefeld, malgré de nombreux essais dans divers liquides nourriciers.

On sait que leur germination a été observée seulement à l'automne sur les Russules ; elles développent alors un filament d'abord simple, puis rameux et cloisonné. Brefeld pense qu'au printemps elles doivent germer différemment et produire des chaînes de conidies oïdiales, dont la dissémination par le vent est plus facile ; la manière dont se comporte alors le noyau sera intéressante à suivre.

HYDNACÉES

Cette famille renferme des genres très dissemblables d'aspect, tels que les *Grandinia*, *Phlebia*, *Irpex* et *Hydnum* ; l'hyménium occupe la face inférieure de la lame ou du chapeau fructifère ; il est situé sur des prolongements qui ont la forme de dents, de papilles, de côtes ou d'épines (fig. 14).



FIG. 14. — Section longitudinale d'un *Hydnum*.

Les *Hydnum* nous conduisent directement aux Polyporées ; nous examinerons brièvement l'hyménium dans une espèce de ce genre.

Hydnum repandum L.

Ce champignon se rencontre à terre dans les bois couverts où il est quelquefois très abondant : le chapeau est compact, charnu, de couleur jaune ; les aiguillons fructifères sont inégaux, fragiles, entiers, tubulés et plus ou moins decurrents ; le pied est plein, épais, rarement central, et il partage la couleur du chapeau.

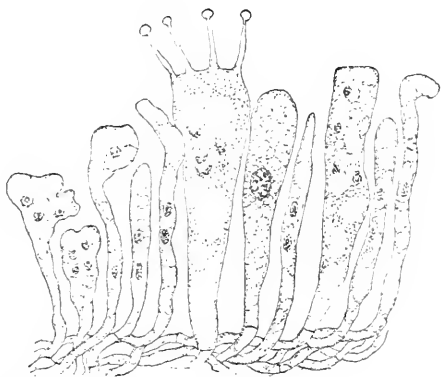


FIG. 15. — *Hydnum repandum* L. — Couche hyméniale. (Grossissement 800.)

L'hyménium dans l'individu étudié n'était pas homogène : on y rencontrait bien çà et là quelques basides

(fig. 15) ; les unes renfermaient un gros noyau vésiculeux dont le nucléole était excentrique ; la chromatine était disposée en un réseau irrégulier. D'autres basides montraient les quatre noyaux provenant du noyau sexuel situés au milieu d'un protoplasma à grandes vacuoles.

Le début des basides est beaucoup plus difficile à distinguer ; car ces jeunes basides à deux noyaux sont entremêlées au milieu d'autres filaments, les uns allongés, cylindriques, droits, les autres recourbés, d'autres enfin en grand nombre renflés très irrégulièrement. On y rencontre fréquemment deux noyaux, mais parfois aussi un plus grand nombre ; dans ces noyaux, autour d'un petit nucléole, se voient quelques granulations chromatiques assez régulières.

POLYPORÉES

Les Polyporées nous représentent un des degrés les plus élevés de la différenciation chez les Champignons : le tissu fructifère est poreux, tubuleux, ou réticulé-poreux, et il est infère ; ces pores ou ces tubes sont tapissés par l'hyménium.

Les principaux genres sont les *Merulius*, *Dædalea*, *Trameles*, *Fistulina*, *Heterobasidion*, *Oligoporus*, *Polyporus*.

Les appareils conidiens sont nombreux et bien développés dans ce groupe, ainsi qu'il résulte des travaux de J. de Seynes, Boudier et Brefeld.

La forme la plus commune est la fructification oïdiale ; les conidies se forment en chapelet à l'extrémité des filaments ; quelquefois elles se produisent sur un appareil qui ressemble tout à fait à celui de l'*Aspergillus* (*Heterobasidion*).

On observe encore dans ce groupe la formation de chlamydospores rappelant celles des *Nyctalis* ; ces spores

sont endogènes et leur membrane propre est distincte de celle du filament.

Ces appareils appartiennent à la reproduction asexuelle tout comme les sporanges, les chlamydo-spores et les conidies de Mucorinées par exemple.

L'étude de la reproduction sexuelle est particulièrement intéressante dans ce groupe : la fécondation s'y présente avec des caractères plus complexes qui rappellent d'une manière frappante ce qui a été vu dans les plantes supérieures.

Polyporus versicolor Fries.

C'est une espèce des plus répandues qui se développe en groupes nombreux sur le vieux bois. Son chapeau est dilaté flabelliforme (fig. 16), rétréci à la base, coriace, rigide, mince, peu convexe, planiuscule ou concave, toujours déprimé, lisse, velouté, luisant, bigarré de zones concentriques grises, brunes, rouges, noirâtres ou d'un noir plus ou moins foncé, avec un reflet verdâtre ou olivâtre, la zone marginale blanchâtre ou jaunâtre pâle, bords aigus, pores petits, arrondis, aigus, puis lacérés, blancs, puis jaunes, luisants.

Lorsqu'on a réussi à obtenir de bonnes préparations d'un hyménium au stade de développement voulu. voici ce que l'on observe (fig. 16. B) :

Les jeunes basides à diamètre très étroit renferment deux noyaux : ils se colorent assez uniformément comme ceux du thalle ; comme ils sont très petits, il est difficile de distinguer exactement les détails de leur structure ; elle est identique, pensons-nous, à celle que nous avons décrite dans les genres précédents.

La fusion de ces noyaux s'opère de bonne heure ; les noyaux se rapprochent au contact, on les trouve ainsi fréquemment rapprochés par paire.

Les basides ne renfermant plus qu'un seul noyau sexuel à la suite de la fécondation sont nombreuses ; et c'est à partir de ce moment, que l'on distingue facilement des centrosomes.

Un des centrosomes occupe le sommet de la baside ; sa grosseur se rapproche quelquefois de celle du noyau ; à condition d'avoir de bonnes colorations, on l'aperçoit

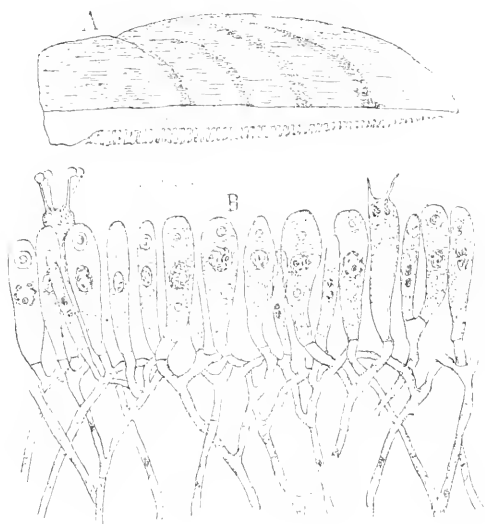


FIG. 16. — *Polyporus versicolor* Fries. — B. Couche hyméniale montrant les noyaux des basides et les centrosomes. (Grossissement 900.)

assez facilement ; le second centrosome, qui n'est pas toujours visible, se trouve au-dessous du noyau.

Ces corpuscules sont constitués par un globule de substance homogène qui ne se colore que difficilement par l'hématoxyline : ils sont entourés d'une zone claire très nette qui les sépare du protoplasma.

Leur position rappelle tout à fait celle des centrosomes que nous avons signalés dans l'asque de la Pézize (1) ; ils

(1) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Ascomycètes (*Le Botaniste*, 1^{er} et 2^e fascicule, p. 38, fig. 56).

se montrent au moment de la fécondation et se placent l'un en avant, l'autre en arrière du noyau. à une distance variable, quelquefois même au contact de la masse nucléaire ; ils disparaissent lorsque le noyau sexuel se divise pour former les noyaux des spores.

Il y a là une coïncidence qui mérite d'être prise en considération ; elle est de nature à confirmer les rappro-

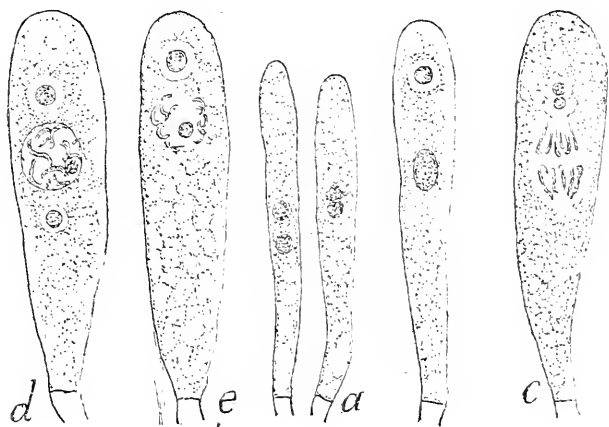


FIG. 17. — *Polyporus versicolor* Fries. — Les basides très fortement grossies ; *a* jeunes basides au moment de la fusion des noyaux sexuels ; *e. d.*, basides montrant la structure du noyau provenant de la fusion ; il est accompagné de centrosomes ; *c.* division indirecte du noyau.

chements que nous avons établis entre le promycèle et l'asque.

On ne saurait manquer d'être frappé également des analogies que ces phénomènes présentent avec ceux qui se produisent à l'intérieur du sac embryonnaire (1) ; il n'est pas téméraire d'espérer que l'on pourra arriver à indiquer comment se comportent exactement les centrosomes avant et après la fécondation ; d'un autre côté, les recherches ultérieures conduiront peut-être à distinguer

(1) Guignard. Nouvelles études sur la fécondation (*Annales des sc. nat.*, 7^e série, t. XIV, 1891).

dans le noyau de la baside les mêmes différenciations que celles qui caractérisent le noyau des plantes supérieures. N'oublions pas en effet que, dans la baside, les noyaux sont très petits, que l'interprétation, par suite, est difficile : ce qui nous a échappé jusqu'ici, d'autres pourront l'observer.

Le noyau sexuel, après la fécondation, devient vésiculeux ; son nucléole se porte du côté de la membrane nucléaire : en même temps, la chromatine se montre sous la forme de granulations de grosseur différente ou même de filaments chromatiques enchevêtrés (fig. 17, *d*).

Nous avons vu ces filaments chromatiques se porter en deux points opposés comme s'il s'agissait d'une division parallèle à l'axe de la baside (fig. 17, *e*). Une autre fois, nous avons rencontré une autre disposition assez caractéristique ; la membrane nucléaire était disparue et les filaments chromatiques en deux groupes se dirigeaient aux deux pôles opposés : au pôle supérieur, on apercevait nettement deux petits centrosomes rapprochés l'un de l'autre ; il s'agissait bien, je pense, d'une division indirecte.

Il nous a été impossible de voir ce que deviennent les centrosomes après la seconde bipartition ; les noyaux qui proviennent de cette dernière se portent sous les stérigmates et passent ensuite dans les sporidies.

On voit quel intérêt s'attache à l'étude de cette espèce : il y aura lieu de rechercher les centrosomes dans les autres espèces de ce genre ; on arrivera ainsi peu à peu à élucider leur histoire.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous sommes arrivé au but que nous nous étions proposé : à l'affirmation de Brefeld qui proclame que l'absence de sexualité chez les champignons supérieurs (Ustilaginées, Urédinées, Ascomycètes, Basidiomycètes) est un fait acquis, indiscutable, nous pouvons maintenant répondre par une affirmation contraire :

Les Champignons supérieurs ont une sexualité qui ne diffère en rien dans ses traits essentiels de celle des autres plantes et des animaux.

Nos lecteurs ont vu les diverses étapes que nous avons franchies ; plusieurs nous ont manifesté l'intérêt qu'ils prenaient à ces recherches et nous les en remercions : il est bon de se sentir soutenu et compris.

Nous pouvions, malgré notre bonne foi et notre confiance dans le résultat final, faire fausse route : nous pouvions contribuer à égarer une fois de plus l'opinion des naturalistes dans une question où les déceptions ont été nombreuses ; nous eût-on tenu compte en ce cas des résultats positifs acquis ?

A mesure que les faits se multipliaient, nos craintes allaient diminuant ; actuellement, on peut dire que si nous nous étions trompé, il n'en faudrait accuser que la nature qui aurait à plaisir accumulé les ressemblances et les fausses similitudes.

Cela n'est pas à craindre ; on s'en rendra facilement compte en étudiant avec nous :

1° *L'origine des noyaux sexuels.*

2° *La nature des phénomènes de fécondation.*

3° *La germination de l'œuf.*

1° *Origine des noyaux sexuels.* — La seule objection sérieuse que l'on puisse opposer à l'existence de la reproduction sexuelle des champignons supérieurs telle que nous l'avons exposée, repose sur l'origine des noyaux sexuels en présence et leur parenté trop rapprochée. Cette objection ne peut résister à un examen consciencieux et approfondi des faits ; nous allons montrer en effet que l'origine de ces noyaux sexuels est identiquement la même et dans ces champignons et dans d'autres exemples où la reproduction sexuelle est admise par tout le monde.

Prenons le genre *Spirogyra* ; dans la plupart des espèces, les gamètes appartiennent à deux filaments différents ; chez quelques espèces cependant, ce sont deux cellules voisines du même filament qui fournissent ces gamètes. Il s'établit entre les deux cellules un canal de communication et l'un des gamètes va, par ce canal, se fusionner avec le second gamète pour constituer l'œuf (fig. 18, F) ; cet œuf ne diffère en aucune façon des zygo-spores formées par deux filaments différents : aussi personne ne leur a jamais contesté le caractère de véritables oospores. Cependant, il est évident que les deux noyaux sexuels proviennent d'un seul et même noyau : nous ignorons le nombre des générations qui les sépare, mais il doit être très faible ; il pourrait même descendre jusqu'à l'unité.

En effet, considérons la cellule A à un seul noyau (fig. 18) qui a donné naissance au filament et supposons que les bipartitions successives se produisent régulièrement ; à la quatrième génération, il existe seize cellules : si la reproduction sexuelle a lieu à ce moment, les noyaux sexuels en présence peuvent appartenir à la 1^{re} génération,

à la 3^e et à la 2^e. Ils peuvent également avoir une parenté beaucoup plus rapprochée : dans ce cas, ils ne seraient que les deux moitiés d'un même noyau qui, après s'être individualisées, se réuniraient à nouveau.

Le schéma que nous donnons (fig. 18, A, B, C, D, E) établit clairement ces relations : il permet en outre de voir facilement les degrés de parenté des divers noyaux au bout d'un nombre quelconque de générations.

On n'a pas, croyons-nous, étudié jusqu'ici lequel des deux modes emploie la plante dans la formation de l'œuf : exagère-t-elle, autant qu'elle le peut, le nombre des générations entre les noyaux sexuels qui proviennent du même noyau, ou se borne-t-elle au contraire à réunir à nouveau deux cellules qui n'en formaient primitivement qu'une seule ?

La première hypothèse paraît à *a priori* la plus probable, mais la seconde (stade B, fig. 18) n'a rien d'in vraisemblable.

En effet, si chez les *Spirogyra* nous n'avons aucune preuve de la fusion des noyaux sexuels à la 1^{re} génération (stade B), nous connaissons chez les *Basidiobolus* un exemple frappant d'une fusion des noyaux sexuels à la seconde génération (stade C, fig. 18).

Le *Basidiobolus ranarum* est un champignon qui a été décrit avec beaucoup de soin et d'exactitude par Eidam (1) ;

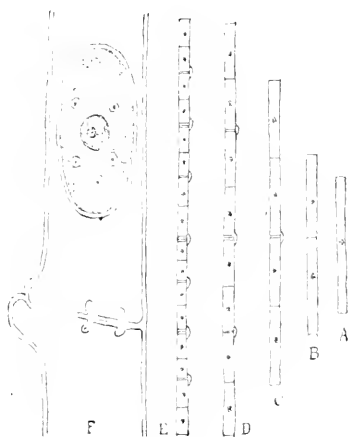


FIG. 18. — *Spirogyra* sp. — Schéma indiquant la parenté des noyaux copulateurs aux stades successifs, A, B, C, D, E ; en E, on voit que cette parenté peut être du 4^e, du 3^e, du 2^e et du 1^{er} degré ; en F, l'œuf formé dans l'une des cellules copulatrices.

(1) Eidam. *Basidiobolus*, eine neue Gattung der Entomophthoraceen *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* von Dr F. Cohn, Breslau, 1881).

il se développe sur les excréments de grenouille. Chaque cellule ne possède qu'un seul noyau (fig. 19, A).

Au moment de la reproduction sexuelle, deux cellules contiguës du même filament effectuent leur copulation ; à cet effet, de chaque côté de la cloison commune, les

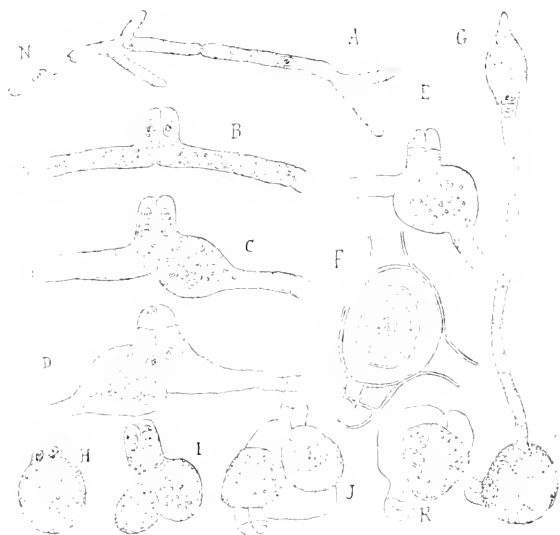


FIG. 19. — *Basidiobolus ranarum* Eidam. — A, Cellule du thalle à un seul noyau ; B, C, D, E, Divers stades de la formation de l'œuf ; F, Œuf mûr à un seul noyau ; G, Germination de l'œuf en un filament portant une sporidie à son sommet ; H, I, J, K, Formation de l'œuf aux dépens d'une conidie. Toutes les figures d'après Eidam, sauf F qui est d'après Chmielewsky.

deux cellules développent une proéminence dans laquelle les noyaux se rendent et se divisent ; il y a ainsi deux noyaux dans chaque proéminence ; l'un s'isole au sommet par une cloison, s'atrophie et disparaît, le second est un noyau sexuel (fig. 19, B, C, D).

La cloison de séparation des deux cellules contiguës s'étant résorbée, l'un des protoplasma avec son noyau passe dans l'autre cellule où s'opère la fusion. L'oospore, ainsi formée, épaisit sa membrane qui se colore en jaune ; elle reste pendant un certain temps à l'état de vie latente

avant de germer ; à la germination, l'oospore [développe un tube qui produit à son sommet une sporidie (fig. 19, G).

Il nous est impossible de fixer jusqu'ici la parenté des noyaux sexuels en présence ; nous avons heureusement un autre critérium. En effet, la formation de l'oospore peut se faire de la même façon aux dépens d'une *conidie*, c'est-à-dire d'une *cellule isolée à un seul noyau* ; celle-ci se divise par une cloison (fig. 19, II) et les deux noyaux se comportent alors comme précédemment ; ils se divisent en deux dans chaque proéminence (fig. 19, I, J, K) ; des quatre noyaux formés, deux s'atrophient dans les deux petites cellules du sommet ; les deux autres sont les noyaux sexuels de l'oospore : ils ne sont donc séparés du noyau de la conidie que par une seule génération (stade B du *Spirogyra*).

Cette constatation est de la plus haute importance ; la sexualité s'est brusquement accusée dans chaque noyau par le rejet d'une masse chromatique dans la cellule atrophiée ; la fusion des noyaux s'opère ici incontestablement à la *seconde génération*.

Si cette fusion des noyaux sexuels au lieu de s'effectuer à la *seconde génération*, se produisait à la *première*, serait-on en droit de lui refuser le nom de fécondation ? Assurément non, si le *résultat de la copulation était le même*. Rien ne prouve que chez les *Spirogyra*, il n'en soit pas ainsi. Ce serait la dernière limite de la sexualité ; mais ne sait-on pas, par ailleurs, que, dans la nature, les chainons qui manquent existent ou ont existé ?

Quoiqu'il en soit, renfermons-nous dans les limites des choses vues, prouvées et admises ; les *noyaux sexuels peuvent provenir d'un même noyau et n'en être séparés que par une génération*.

Nous pouvons alors aborder l'origine des noyaux sexuels dans la reproduction des Ascomycètes ; elle est

identique à celle que nous venons de constater chez le *Basidiobolus ranarum*.

Considérons la formation de l'œuf chez une Pézize telle que nous l'avons décrite (1) :

« Un filament vient dans le stroma ascifère et son extrémité incolore se recourbe en bec ; à ce moment, nous avons vu un noyau en division dans le filament ; la partie

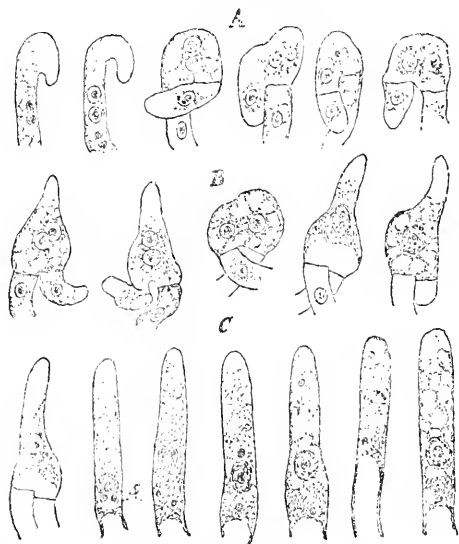


FIG. 20. — *Peziza vesiculosa* Bull. — A, Formation des oospores à deux noyaux ; B, Aspects divers de ces oospores et débuts de la germination ; C, Jeunes asques après la fécondation.

recourbée s'allonge et vient s'accoler sur l'autre ; elle peut même se porter à quelque distance à droite et à gauche ; un second noyau a subi une division dans le filament, de telle sorte qu'il y a maintenant quatre noyaux.

« Deux de ces noyaux occupent la partie bombée, qui s'isole à la fois du filament et de son extrémité recourbée, par une cloison ; les deux cloisons sont quelquefois à un niveau un peu différent (fig. 20, A).

(1) P.-A. Dangeard. La reproduction sexuelle des Ascomycètes (*le Botaniste*, 4^e série, 1^{er} et 2^e fascicule, p. 38, fig. 6).

« Notre attention doit maintenant se porter tout entière sur cette cellule à deux noyaux : c'est là que va se produire la fécondation qui aura comme résultat immédiat la formation de l'asque (fig. 20, B). »

On voit clairement par la description et la figure que les noyaux sexuels sont au minimum séparés du noyau commun qui leur a donné naissance *par une génération*, comme chez les *Basidiobolus* ; sauf l'existence d'une cloison tran-

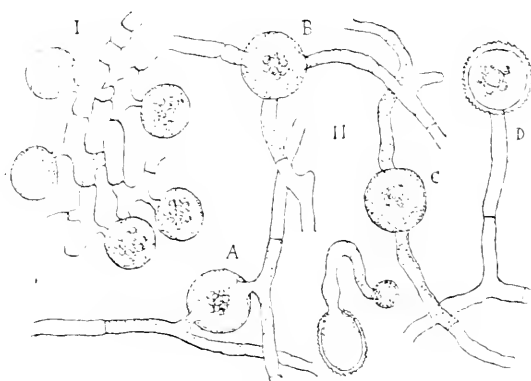


FIG. 21. — I. *Entomophthora radicans* Brefeld. Formation des œufs ; II. *Cordiobolus utriculosus* Brefeld ; A, B, C, D, Divers aspects de la formation de l'œuf. D'après Brefeld.

sitoire, tout est identique. Or, cette cloison transitoire n'a aucune importance, puisque l'on sait pertinemment que dans beaucoup d'organismes, la division en articles ne correspond nullement au nombre d'individualités (Vauchéries, Saprologniées, Péronosporées, etc.) ; c'est un fait admis par tout le monde.

Cette origine des noyaux sexuels est très claire dans les Discomycètes (*Peziza*, *Helvella*, *Acetabula*, etc.) ; elle est très probablement la même chez les Ustilaginées et les Basidiomycètes (1).

(1) Cette origine différente des noyaux sexuels est certaine chez les Urédinées d'après les observations effectuées à notre Laboratoire par Sappin-Trouffy.

Que l'on vienne maintenant à comparer la formation de l'œuf chez les Entomophthorées avec celle des Ustilaginées : nous n'aurons pas de peine à reconnaître qu'elle présente les mêmes caractères dans les deux groupes : si l'on considère d'une part les *Entomophthora* (fig. 21, I) et les *Conidiobolus* (fig. 21, II) et d'autre part le genre *Entyloma* (fig. 22), on ne peut qu'en être frappé : cela est

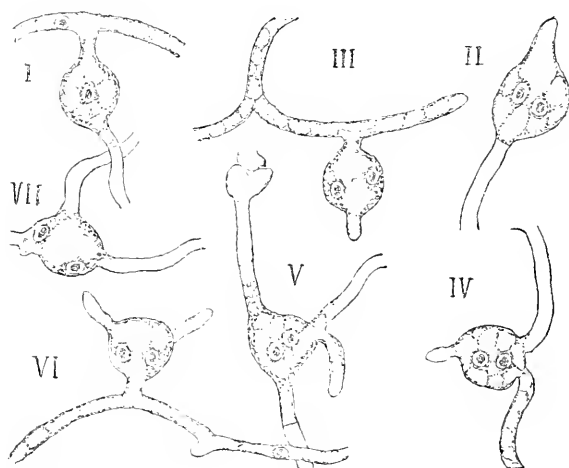


FIG. 22. — *Entyloma Glanvillei* Dang. I-VII. Divers états de développement des oospores.

surtout évident pour les *Conidiobolus* ; l'aspect des filaments portant les oospores est exactement identique dans les deux genres ; et s'il existe encore des lacunes, c'est du côté des *Conidiobolus* où l'on ne connaît pas encore les noyaux, alors que tous les phénomènes qui accompagnent la fécondation sont connus dans l'*Entyloma*. Pourtant, dans les traités classiques, on n'hésite pas, et avec raison, à reconnaître le caractère d'oospores aux spores durables des *Entomophthora* (1) ; à plus forte raison, ne peut-on contester cette attribution aux formations

(1) Van Tieghem. *Traité de Botanique*, 2^e édition, p. 1081-1082.

analogues des Ustilaginées chez lesquels la fécondation est connue ainsi que ses résultats.

2° *Nature des phénomènes de fécondation.* — Après la question de l'origine des noyaux sexuels se place naturellement celle de la fécondation : celle-ci, à son maximum de complication, répond, selon les travaux de Fol (1) et de Guignard (2), à la formule suivante :

« La fécondation est la fusion de deux demi-noyaux et de quatre demi-centrosomes, provenant d'éléments de sexe opposé, en un noyau et deux centrosomes formés par parties égales des substances des deux parents. »

La préparation des noyaux à leur fonction sexuelle consiste, chez les animaux, dans une réduction de moitié du nombre normal des chromosomes des noyaux ordinaires ; mais dans les exemples les mieux étudiés (*Ascaris megalocephala* et *Pyrrochoris apterus*), on n'est même pas d'accord sur la manière dont elle se produit.

Il résulte des travaux de Guignard que la même réduction a lieu chez les plantes : « Dans le sac pollinique, comme dans le nucelle, c'est toujours au moment de la première division du noyau de la cellule mère définitive du pollen, ou du noyau du sac embryonnaire, que le nombre des segments chromatiques se réduit exactement et brusquement à la moitié de celui qu'on observe dans les noyaux des tissus qui produisent les cellules sexuelles (3). »

On est loin toutefois d'avoir établi que la fécondation présente partout ces caractères de haute différenciation ; il semble même plus probable qu'elle est généralement beaucoup moins compliquée. Ainsi, pour Hartig, comme

(1) H. Fol. Le quadrille des centres... (*Arch. des sc. phys. et nat.* de Genève, 15 avril 1891).

(2) Guignard. Nouvelles études sur la fécondation (*Ann. sc. natur.* 7^e série, T. XIV, 1891).

(3) Guignard, *loc. cit.*, p. 246.

pour Boveri, le phénomène essentiel se réduit à la *fusion des deux noyaux*, et il paraît que fréquemment le noyau mâle seul est accompagné d'un centrosome.

Les avis sur le rôle des centrosomes sont tellement nombreux et tellement peu concordants (1), qu'on nous permettra de ne pas y insister. On remarquera d'autre part que la réduction des chromosomes dans les noyaux sexuels n'a été vue, soit chez les animaux, soit chez les végétaux, que dans un nombre très restreint d'espèces. Dans les quelques Thallophytes (*Chlamydomonas*, *Spirogyra*, *Ædogonium*, etc.) où l'on a suivi la fusion des noyaux sexuels, on n'a pas vu de *centrosomes* ; on n'a pas davantage observé de réduction des chromosomes avant la fusion : tout considéré, la fécondation chez les champignons supérieurs présente des caractères plus complets, se rapprochant davantage de ceux qui ont été signalés par Guignard dans les plantes phanérogames !

En effet, nous savons que les deux noyaux sexuels en présence se différencient facilement des noyaux végétatifs ordinaires : ils sont plus gros, ils se colorent mieux par les réactifs ; ils ont fréquemment un gros nucléole. Alors que, dans les mêmes plantes, on réussit quelquefois à distinguer à l'intérieur des noyaux végétatifs des granulations chromatiques distinctes, il est souvent impossible de voir la moindre différenciation entre le nucléole et la membrane nucléaire dans les noyaux sexuels. Ces noyaux se fusionnent intimement en un seul ; et ce dernier, à la suite de la fécondation, va subir des changements importants. Son volume augmente très notablement ; des segments chromatiques ou tout au moins des granulations chromatiques se montrent dans le suc nucléaire. Ce noyau est tout préparé pour les divisions ultérieures ; il est la souche de tous les noyaux de la future nouvelle plante.

(1) Consulter : A. Prenant. Le corpuscule central et la division cellulaire *Revue générale des sciences*, n° 3, 15 février 1895).

De plus, au moment où s'opère la fécondation, apparaissent des centrosomes au nombre d'un ou deux; ils accompagnent le noyau sexuel, l'un placé en avant, l'autre placé à l'arrière (*Peziza*, *Polyporus*); ils sont tantôt au contact de la masse nucléaire, tantôt à quelque distance dans le protoplasma : ils semblent pouvoir se diviser à la première bipartition du noyau (*Polyporus versicolor*); on ne les voit plus ordinairement par la suite; par exception, les sporidies des Trémelles en possèdent un nettement visible.

Nous sommes strictement en droit de conclure que, chez les Champignons, la fécondation se produit avec les caractères essentiels qu'elle présente chez les animaux et chez les autres végétaux; nous pouvons même ajouter que ces caractères sont plus complets que ceux qui ont été vus jusqu'ici chez les autres Thallophytes.

Germination de l'œuf.— Il nous reste à montrer que l'œuf se comporte dans sa germination chez les Champignons supérieurs, comme celui des autres Champignons et comme celui des Algues : la démonstration sera alors complète.

Nous distinguerons trois cas.

A. L'œuf germe par l'intermédiaire d'un promycèle (Ascomycètes, Urédinées, Ustilaginées).

Chez les Ascomycètes, l'œuf pousse un prolongement qui est l'asque; tout le protoplasma passe dans ce sac et c'est là que le noyau sexuel subit un nombre de bipartitions déterminé, trois le plus souvent; il se forme ainsi huit sporidies (fig. 23, II, A, B, C). L'asque peut rester en communication directe avec l'œuf, mais il peut également s'en séparer par une cloison.

Que l'on compare cette germination à celle d'un œuf de Mucorinée (1), et l'on ne pourra manquer d'en saisir les

(1) L'interprétation que Van Tieghem a donnée de la germination des œufs de Mucorinée doit être maintenant modifiée. *Traité de Botanique*, 2^e édition, p. 1004.

ressemblances étroites; dans la Mucorinée (fig. 23, I), l'œuf en germant produit un filament qui se termine par un sporange renfermant les sporidies; l'asque n'est autre

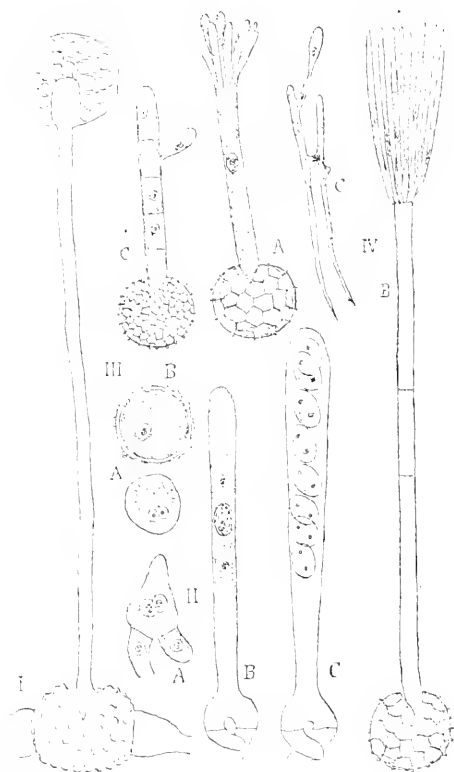


FIG. 23. — I, Germination d'un œuf de Mucorinée. II, A, Formation de l'œuf d'une Pézize; B, C, germination de cet œuf en asque ou sporogone. III, A, B, C, Formation de l'œuf et germination dans l'*Ustilago Tragopogi*. IV, A, B, Germination de l'œuf dans le *Tilletia Caries*; C, Sporidies anastomosées et sporidioles.

chose qu'un petit sporange à pédicelle court, et déjà Brefeld, sans en connaître la cause, avait saisi ces rapports qui trouvent maintenant leur explication naturelle.

Chez les Ustilaginées et les Urédinées, les sporidies qui proviennent de la germination de l'œuf ne sont point endogènes; elles sont exogènes. C'est là une différence bien peu marquée; le noyau sexuel se divise dans le pro-

mycèle comme il le fait dans l'asque, et les noyaux passent dans les sporidies; celles-ci sont en général au nombre de quatre ou de huit (fig. 25, III, A, B, C; IV, A, B, C).

Il existe ainsi un certain nombre de plantes dans lesquelles l'œuf donne naissance à des sporidies qui sont portées sur un promycèle ou un organe analogue. Le plus remarquable est sans contredit celui des Floridées dans lesquelles l'appareil intermédiaire qui provient de l'œuf et porte les spores, se montre souvent très développé; aussi n'hésite-t-on pas à le considérer comme analogue au sporogone des Mousses; il en résulte tout naturellement que le promycèle des Ustilaginées et des Urédinées, ainsi que l'asque des Ascomycètes, ne sont en réalité autre chose que des sporogones.

Comme le sporogone des Mousses, comme celui des Floridées, ils proviennent de la *germination* d'un œuf bien caractérisé et ils fournissent des *spores* ou *sporidies*.

Sous l'influence des idées énoncées par de Bary qui avaient, il faut en convenir, une apparence de vérité, on a longtemps recherché en vain chez les Champignons l'analogue du sporogone des Mousses; on ne doutait pas que ce fût le périthèce dans le groupe des Ascomycètes et le carpophore chez les Basidiomycètes; pour la même cause, on recherchait la fécondation au début du glomérule dans les *Urocystis* et à l'origine de l'écide chez les Urédinées. Ces idées étaient fausses; il faut le reconnaître aujourd'hui, alors que nous montrons que le sporogone des Champignons supérieurs ne diffère en rien de celui des autres plantes.

B. *L'œuf se cloisonne*. Chez les Protobasidiomycètes, l'œuf ne fournit plus de promycèle; au lieu de se cloisonner à l'extérieur dans le filament germinatif, il se cloisonne intérieurement; les cloisons sont transversales ou longitudinales selon les genres. Dans les deux cas, chaque cellule fournit un filament qui s'amincit à son extrémité

en un stérigmate qui supporte la sporidie (fig. 24, II, A, B, C).

Cette disposition rattache directement les Protobasidiomycètes aux Urédinées par l'intermédiaire des *Coleos-*

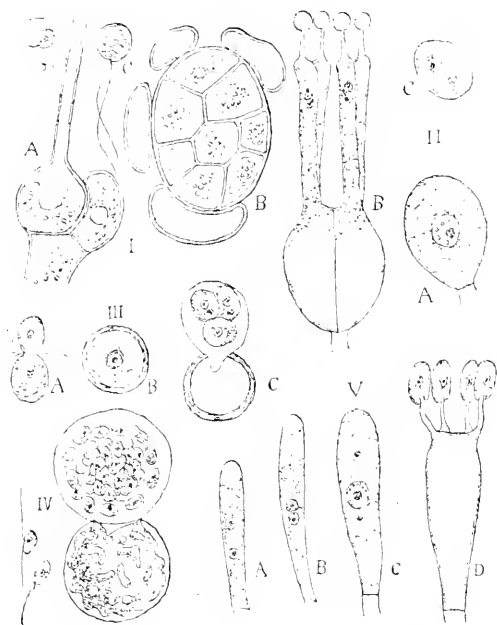


FIG. 24. — I, A, B, C, Formation de l'œuf et germination dans le *Coleochaete pulvinata*. II, A, B, Germination de l'œuf dans la *Tremella mesenterica* ; C, sporidie avec un noyau et un centrosome. III, A, B, C, Formation de l'œuf et germination dans les Chlamydomonadinées. IV, Germination de l'œuf du *Cystopus candidus* en zoospores. V, A, B, C, D, Formation de l'œuf et germination dans un Basidiomycète.

porium. Ce mode de germination de l'œuf n'a rien que de normal ; il se rencontre comme le premier chez les Floridées ; on le trouve également très caractéristique dans les *Coleochaete*. Dans ce dernier genre, l'œuf qui se forme au moyen d'un oogone, surmonté d'un trichogyne, et d'un anthérozoïde (fig. 24, I, A), se cloisonne après la fécondation en plusieurs cellules (fig. 24, I, B) : chacune de ces cellules donne naissance à une zoospore et c'est un cas

de germination de l'œuf tout à fait semblable à celui des Protobasidiomycètes.

C. *L'œuf fournit directement, sans se cloisonner, les sporidies.* C'est ce qui a lieu dans les Autobasidiomycètes qui forment la grande majorité des Champignons basidiomycètes. Le noyau sexuel se divise en quatre ou en huit dans la baside ; au sommet de celle-ci se développent deux, quatre ou huit stérigmates qui se renflent à leur sommet pour former les sporidies ; les noyaux passent dans les sporidies en traversant les stérigmates (fig. 24, V, D).

On peut dire qu'ici il n'y a plus que des traces de sporogone ; il en est de même dans beaucoup de thallophytes chez lesquels le sporogone manque ou reste rudimentaire ; nous ne citerons que les Chlamydomonadinées parmi les Algues (fig. 24, III, A, B, C,) les *Cystopus* parmi les champignons (fig. 24, IV).

Ce court exposé suffit pour nous montrer que dans les champignons supérieurs, l'œuf germe de la même façon que dans les autres thallophytes ; on chercherait en vain, dans les différents appareils conidiens, quelque chose d'analogue.

Chez les Basidiomycètes et les Ascomycètes, l'œuf s'individualise peu et sa membrane propre ne se sépare ordinairement point de la membrane de l'oogone.

Il en est de même chez les Floridées et cela tient uniquement à ce que l'œuf, dans les deux cas, germe immédiatement sans passer à l'état de vie latente.

Cela est si vrai que chez les Ustilaginés et les Urédinées dans lesquelles la germination a lieu plus tard, l'œuf s'entoure d'une membrane épaisse et résistante distincte de celle de l'oogone ; il possède alors les caractères qu'il présente dans la majorité des Thallophytes.

SUR UN NOUVEAU CAS REMARQUABLE

DE SYMBIOSE

Par P.-A. DANGEARD

On connaît déjà un certain nombre de ces associations à bénéfice réciproque, formées par des êtres qui n'ont fréquemment entre eux qu'une parenté fort éloignée.

Tantôt c'est une algue qui vit à l'intérieur d'Infusoires et les colore en vert (1) ; tantôt c'est un *Nostoc* qui s'introduit dans les feuilles d'*Azolla* et s'y développe abondamment. Ailleurs, on voit un champignon entourer les jeunes racelles d'un feutrage et jouer le rôle des poils absorbants qui manquent ; d'autrefois, une sorte de Bactérie (*Rhizobium leguminosarum*) vit dans les racines des Légumineuses, y développe la formation de nodosités, ce qui est en rapport avec la fixation d'azote par ces plantes. Enfin, l'un des exemples les plus remarquables de symbiose est fourni par les Lichens qui sont le résultat de l'association d'une algue et d'un champignon.

Mais dans tous ces exemples cités et dans ceux qui sont venus à ma connaissance, les êtres en présence sont de nature très différente : il n'en est pas un seul qui se pré-

(1) P.-A. Dangeard. Contribution à l'étude des organismes inférieurs (*le Botaniste*, 2^e série).

sente avec les caractères de celui qui nous reste à examiner.

Il s'agit de deux champignons basidiomycètes appartenant à des genres voisins qui mélangent intimement leurs thalles et leurs fructifications.

Ces deux champignons appartiennent l'un aux Protobasidiomycètes, dans lesquels la baside est cloisonnée, alors que le second est un Autobasidiomycète; quoique appartenant à deux groupes différents, ils sont néanmoins très voisins comme organisation et comme parenté effective.

C'est l'année dernière, au mois de septembre, que je recueillis sur du bois mort en assez grande quantité un champignon que je déterminai comme étant le *Dacryomyces deliquescens*; je ne remarquai à ce moment d'autres différences entre les divers exemplaires recueillis que celles qui distinguent les individus conidifères de ceux qui portent les basides.

Aussi je fus très surpris en étudiant ces divers échantillons, d'y trouver des différences profondes: les uns avaient la structure normale du *Dacryomyces* telle que nous l'avons décrite précédemment; le thalle y est constitué par des filaments mycéliens à faible diamètre qui circulent au milieu d'une substance gélatineuse abondante; dans chacun des articles se trouvent deux noyaux; ces filaments se ramifient abondamment vers la surface et forment un stroma qui supporte les basides; celles-ci sont allongées, cylindriques ou claviformes et elles se divisent en deux branches qui portent les sporidies; cette couche des basides est très régulière.

Il n'en était plus de même dans certains autres échantillons; la structure du thalle ne présentait que des différences assez légères, mais la couche des basides se trouvait profondément modifiée: ainsi au milieu des basides allongées du *Dacryomyces*, se trouvaient d'autres organes dont la signification nous échappa tout d'abord; ces or-

ganes consistaient en renflements portés sur de longs pédicelles ; ces renflements se montraient à tous les niveaux de la couche fructifère et leur forme était loin d'être toujours régulière ; leur grosseur était également variable. On aurait pu croire qu'il y avait là un second mode de fructification du *Dacryomyces*.

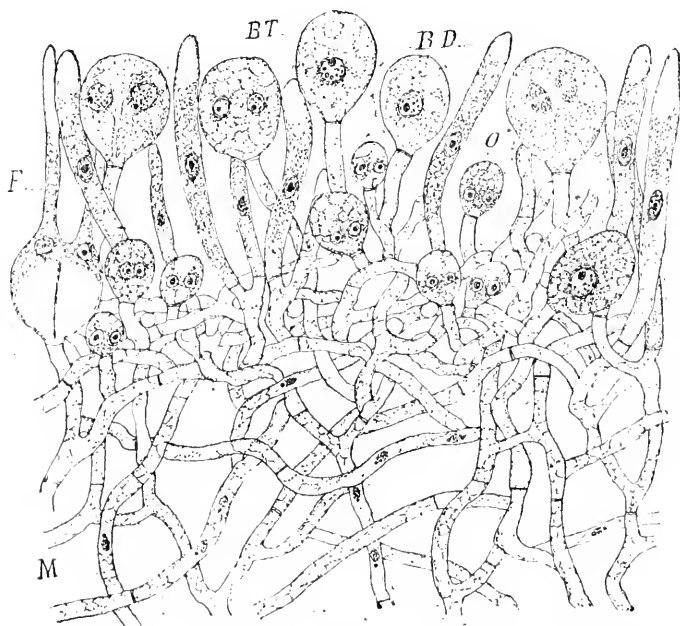


FIG. 25. — Basides de *Dacryomyces deliquescens* B,D, et de Trémellinée, B,T, associées sur un même stroma.

En poursuivant nos recherches, en faisant une étude histologique complète de ces formations, nous avons réussi à élucider leur structure et à reconnaître leur véritable nature ; ce sont des basides appartenant à une Trémellinée qui vit en association avec le *Dacryomyces*.

Nous avons pu suivre le développement de ces basides, grâce aux doubles colorations. Toutes les jeunes basides possèdent deux noyaux à gros nucléole, à con-

tour net : ces noyaux se placent côte à côte transversalement et ils se fusionnent. La fécondation se fait comme chez les Trémelles : le noyau sexuel qui en provient augmente rapidement de volume et on distingue à partir de ce moment les granulations chromatiques qui sont d'un beau rouge ; ces granulations sont presque toutes disposées à la périphérie du noyau ; le nucléole se porte également vers la surface. Il ne nous a pas été possible, vu l'exiguité de ces noyaux, de nous prononcer sur le caractère de la division : toujours est-il que les granulations chromatiques sont alors orientées en files régulières ; les quatre noyaux, qui proviennent de la double bipartition du noyau sexuel, ont, sauf leur taille plus réduite, une structure identique à celle de ce dernier ; les deux cloisons longitudinales qui partagent la baside en quatre, sont minces et à peine perceptibles.

La baside produit à son sommet quatre filaments germinatifs comme chez les Trémelles. Mais nous n'avons pas réussi à observer les sporidies. Aussi, il nous est impossible de dire si l'espèce considérée est un *Tremella* ou un *Exidia*. Les espèces de ces deux genres ont été longtemps confondues ; les caractères qui permettent de les distinguer sont, d'après Brefeld, la forme des sporidies et la présence ou l'absence de conidies au milieu des basides ; chez les Trémelles, on trouve des conidies au milieu de la couche portant les basides, jamais dans les *Exidia* ; les sporidies sont de forme elliptique dans les Trémelles, elles sont allongées réniformes dans les *Exidia* ; nous n'avions à notre disposition aucun de ces caractères de détermination.

La proportion relative des deux sortes de basides dans la couche fructifère est très variable ; quelquefois l'hyménium du *Dacryomyces* est à peine modifié ; on n'y trouve que quelques rares basides appartenant à la Trémellinée ; mais parfois, ce sont ces dernières qui sont en

majorité et les basides du *Dacryomyces* ne sont plus aussi régulièrement perpendiculaires à la surface.

Il était intéressant de chercher à différencier dans le thalle les filaments mycéliens appartenant à l'une ou à l'autre des deux espèces ; on reconnaît bien à la vérité que les plus gros articles se rapportent à la Trémellinée et que les plus petits sont ceux du *Dacryomyces deliquescens* ; mais les transitions échappent à une distinction absolue. Cela est d'autant plus facile à comprendre que, dans les deux espèces, la structure générale est la même et que chacun des articles renferme deux noyaux.

Ces noyaux, dans les gros filaments, sont assez caractéristiques : le nucléole est presque indépendant de la masse nucléaire ; dans celle-ci, on distingue quelques granulations chromatiques excessivement petites. En résumé, nous avons dans cet exemple deux champignons qui mélangent intimement leurs éléments mycéliens en un seul thalle ; ils forment leurs basides dans la même couche fructifère, chacun gardant ses caractères et n'éprouvant de la présence d'un associé que des déformations à peine sensibles.

Dans l'association, le *Dacryomyces deliquescens* joue le rôle principal ; c'est lui qui entre pour la plus grande part dans la constitution du thalle mixte ; c'est du moins ce qui avait lieu dans les échantillons que nous avons étudiés.

Si l'on veut rechercher parmi les exemples connus ceux qui se rapprochent le plus de celui que nous venons de signaler, il faut évidemment s'adresser aux Lichens, dans lesquels le champignon et l'algue contractent des relations aussi étroites que celles qui unissent nos deux champignons. Mais tandis que pour les Lichens nous saisissons le but et l'utilité d'une telle association, ici nous ne pouvons en donner aucune explication.

On définit assez généralement la symbiose, une asso-

ciation « à bénéfice réciproque » ; il serait peut-être bon d'étendre un peu cette définition et d'y faire rentrer l'association formée par le *Dacryomyces deliquescens* et la *Trémellinée* sous le nom de symbiose indifférente. On en trouvera peut-être d'ailleurs d'autres exemples. Ici la distinction des deux êtres associés était facile parce qu'ils ont des basides très différentes et caractéristiques ; mais supposons que l'association se produise entre deux champignons ayant des basides semblables, et il sera beaucoup plus difficile de la reconnaître. Maintenant qu'il existe un point de repère, peut-être arrivera-t-on à trouver chez les champignons un assez grand nombre d'associations semblables.

A PROPOS D'UN TRAVAIL DU D^r C. S. MINOT

SUR LA

DISTINCTION DES ANIMAUX ET DES VÉGÉTAUX

Par P.-A. DANGEARD

Nous lisons dans « The Botanical Gazette », n° 6, juin 1895, p. 280 :

« In *Science* (mars 22d), the paper of D^r C. S. Minot, read at the recent meeting of the American Society of Morphologists, on the « fundamental difference between plants and animals » is published in full. The formal definitions are as follows : « Animals are organisms which take part of their food in the form of concret particles, which are lodged in the cell protoplasm by the activity of the protoplasm itself : plantes are organisms which obtain all their food in either the liquid or gazeous form by osmosis (diffusion) ». The interesting speculation is offered « that the absorption of solid particles of food is to be considered one of the most essential factors in determining the evolution of the animal kingdom ». « The plant receives its food passively by absorption, and the evolution of the plant world has been dominated by the tendency to increase the external surfaces, to make leaves and roots. The animal, on the contrary, has to obtain at least the solid part of its food by its own active struggle to secure food we may safely

attribute a large part of the evolution of locomotor, nervous and sensory systems of animals ». Of course the correctness of the definition depends upon the definition of « food in the two cases ».

D'après ce qui précède, on pourrait croire que le D^r C. S. Minot a trouvé une formule nouvelle de la plus haute importance dans la distinction des animaux et des végétaux.

La formule existe : elle a été donnée dans des termes absolument identiques aux précédents ; et le D^r Minot, mieux informé, voudra bien reconnaître lui-même qu'il n'en est pas l'auteur :

C'est en 1886 que nous avons établi, dans notre thèse de Doctorat, l'importance du mode de nutrition au point de vue de la distinction des animaux et des végétaux (1); puis en 1887, dans une note à l'Académie des sciences (2).

Depuis cette époque, nous en avons développé les conséquences et les applications dans de nombreux mémoires : on trouvera ces travaux indiqués dans le *Botaniste*, n° du 25 janvier 1895 (3) ; il ne saurait donc subsister aucun doute.

Sous ces réserves, il ne nous déplaît pas de constater qu'un zoologiste de grand talent, — le même qui a attaché son nom à une théorie célèbre dans l'histoire de la fécondation (4), — se rallie à des idées qui ont reçu un accueil très réservé lorsque nous les avons énoncées pour la première fois.

(1) P.-A. Dangeard. Recherches sur les organismes inférieurs (*Ann. des sc. natur.*, 7^e série, Botanique T. IV).

(2) P.-A. Dangeard. Sur l'importance du mode de nutrition au point de vue de la distinction des animaux et des végétaux (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1887).

(3) P.-A. Dangeard. Notice bibliographique sur nos publications en Botanique (*le Botaniste*, 4^e série, 3^e fascicule, janvier 1895).

(4) C. S. Minot. On the formation of the animal and the phenomene of impregnation among animals (*Proceed. Boston, Soc. nat. Hist.* XIX, 1877).

NOTE SUR LE CLADOSPORIUM DU POMMIER

Par P.-A. DANGEARD

Le *Cladosporium herbarum* a été très bien étudié récemment par Edouard Janczewski sur les graminées (1); une forme à développement très voisin se rencontre, on le sait, sur le pommier.

Voici dans quelles conditions nous avons été conduit à étudier ce champignon.

M. Loret, instituteur au Sap, avait remarqué dans l'Orne et dans l'Eure une maladie du pommier qui occasionnait des dégâts très sensibles.

Le parasite s'attaque aux feuilles qui se dessèchent sur les bords, se recroquevillent et finissent par être complètement envahies : on trouve aussi çà et là sur le limbe quelques taches desquelles rayonnent des lignes brunâtres. Les feuilles prennent une teinte gris cendré tout à fait caractéristique ; elles meurent et se détachent de l'arbre ; si on les froisse, elles se réduisent en poussière.

C'est vers le mois de juin que l'altération commence à se manifester ; au mois d'août et de septembre, les pommiers atteints paraissent à moitié morts.

Les ravages sont très sensibles dans les pépinières sur les jeunes arbres, qu'ils soient greffés ou non. M. Loret a observé, dans l'Eure, un certain nombre de ces pépinières qui avaient subi du fait de cette maladie une dépréciation considérable. Les arbres adultes ne résistent pas mieux que les sauvageons aux attaques du parasite ; en

(1) Edouard Janczewski. Recherches sur le *Cladosporium herbarum* et ses compagnons habituels sur les céréales (*Bulletin de l'Académie des sciences de Cracovie*, juin 1894).

plusieurs endroits, ils sont envahis et épuisés ; les pommes restent petites et ne se développent plus, passé le mois d'août.

On avait pensé que cette maladie était due à l'*Asteroma mali* Desmazières.

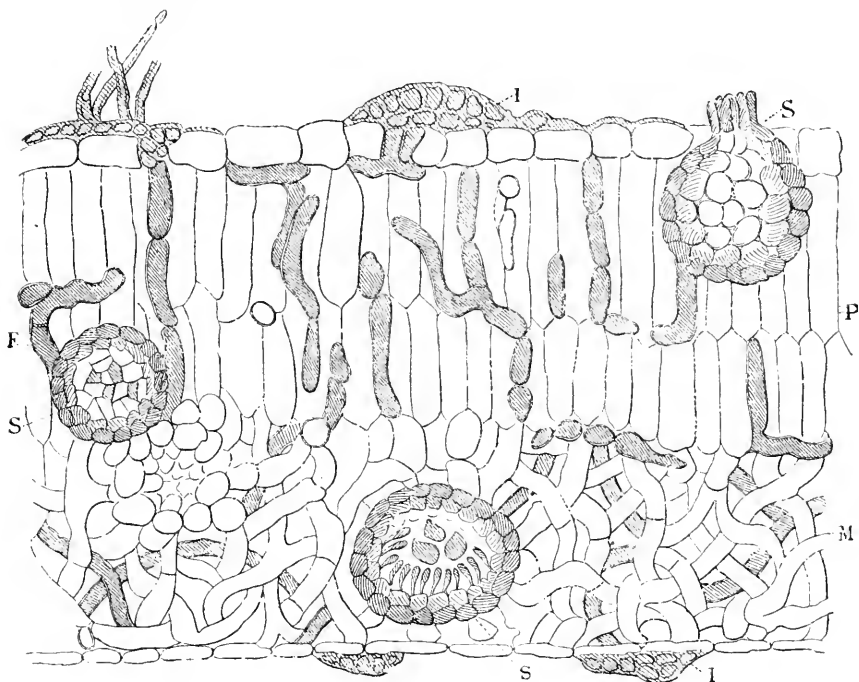


FIG. 1.

M. Loret nous ayant obligeamment communiqué un lot de feuilles malades, afin d'avoir notre avis, nous avons été très surpris de n'y rencontrer que le *Cladosporium* ; peut-être n'est-il pas inutile de signaler les divers états sous lesquels il se présentait.

Le parasite se développe non seulement sur la feuille, mais aussi à son intérieur dans le parenchyme en palisade *P* et le mésophylle sous-jacent *M* ; c'est ce que montre bien une section transversale d'une feuille malade (fig. 1).

Dans cette section, nous voyons le champignon for-

mer sous la cuticule des amas de cellules noirâtres, intimement unies en une ou plusieurs assises superposées *I*; quelques-unes fournissent des bouquets de filaments fructifères qui se dressent perpendiculairement à la surface de la feuille; on en trouve sur les deux faces du limbe. Des filaments mycéliens nombreux *F*, ramifiés, s'insinuent par les stomates et pénètrent à l'intérieur de la feuille en rampant entre les cellules; ils sont divisés en articles de longueur variable et leur couleur est également noirâtre.

Avec l'aide d'une simple loupe, on aperçoit déjà de nombreuses sphères de couleur foncée appartenant au parasite; le microscope permet de fixer leur position et de déterminer leur structure propre; ils peuvent se rencontrer en tous les points du mésophylle (*S*, *S'*, *S''*), mais le plus

souvent, ils occupent une chambre sous-stomatique distendue; nous verrons tout à l'heure quelle est leur structure.

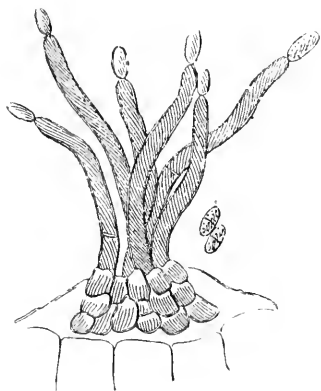


FIG. 2.

Les filaments fructifères qui se développent sur les croûtes noirâtres superficielles sont caractéristiques des *Cladosporium*; ils sont simples ou cloisonnés: leur couleur est brune jusqu'au sommet; à ce sommet, on voit poindre une spore incolore d'abord très petite, elle grossit, sa

membrane s'épaissit, se colore et montre de petites verrues qui ornent sa surface; ces spores deviennent bicellulaires (fig. 2).

On rencontre quelquefois, mais rarement, des filaments qui, au lieu de se terminer par une spore ordinaire, se renflent en une grosse sphère qui représente probablement une chlamydospore (fig. 3); la membrane en est très épaisse et cutinisée.

Les sphères noires que l'on rencontre en abondance dans toute l'épaisseur de la feuille, sont pour la plupart encore à l'état de sclérotés ; leurs cellules sont remplies de réserves et on distingue au milieu un globule oléagineux (fig. 4).

Quelques-unes fournissent un bouquet de filaments fructifères portant des spores ordinaires (fig. 5).

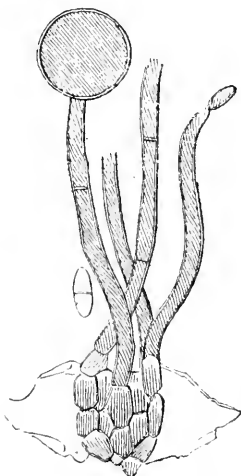


FIG. 3.

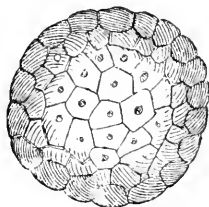


FIG. 4.

L'écorce des sclérotés est en général formée par deux couches de cellules polygonales, de couleur noire ; le centre comprend des cellules de pseudo-parenchyme qui ont une constitution variable ; elles sont quelquefois incolores à contenu homogène, ou bien elles renferment un globule de substance oléagineuse : ces sclérotés sont destinés à fournir des *pycnides* et des *périthèces*, mais nous n'avons réussi à observer que le début des *pycnides* : les cellules centrales se résorbent et une couche de basides, légèrement renflées à leur extrémité, se développe à l'intérieur de ces conceptacles (fig. 1, S).

Nous avons rencontré, mais très rarement, des conceptacles renfermant une grande quantité de sporidioles

ovales, incolores ; leur paroi ne comprenait qu'une assise de cellules (fig. 6).

Le *Cladosporium herbarum* exige, pour se développer, au début un tissu mort ; il ne peut s'implanter sur des organes sains, d'après les observations de Janczewski : c'est certainement lui que j'ai signalé, continuant l'œuvre

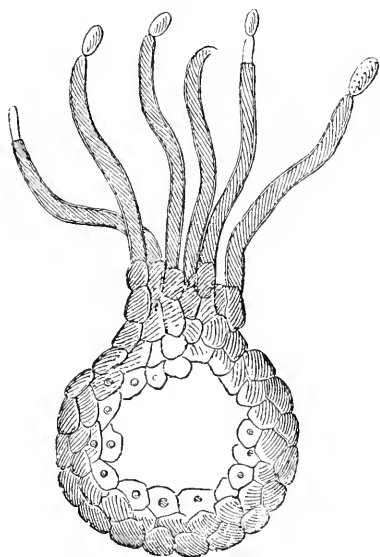


FIG. 5.

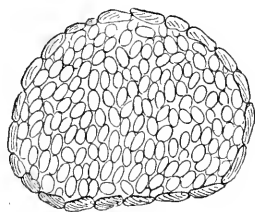


FIG. 6.

de destruction du puceron lanigère, du *Phytopus*, etc. (1) ; partout où une blessure s'est produite, le champignon s'insinue, se développe, et peut devenir redoutable.

Ses appareils de fructification sont nombreux et variés, et il faudrait une étude approfondie pour les distinguer de ceux des *Fusicladium* qu'ils doivent accompagner fréquemment ; nous reprendrons ce point, que nous jugeons imparfaitement étudié, lorsque nos occupations le permettront.

Dans le cas présent, nous ne connaissons pas la cause qui permet au *Cladosporium* de se développer sur

(1) P.-A. Dangeard. *Les maladies du pommier et du poirier* (Paris, 1889, Baillière, 49, rue Hautefeuille).

les feuilles de pommier avec une telle abondance ; il faudra la rechercher au moment où l'altération commence à se manifester.

Il est bon d'ajouter, d'ailleurs, que le *Cladosporium condylonema* Passerini attaque les feuilles de prunier en pleine vigueur (1) ; il en est de même peut-être du *Cladosporium* du pommier ; de nouvelles observations s'imposent.

Elles s'imposent également au même point de vue pour un grand nombre de parasites : Sorauer a fait avec raison remarquer qu'il y avait plusieurs degrés dans le parasitisme des champignons (2). On doit chercher à distinguer avec soin : 1° les parasites qui s'attaquent aux organes vivants d'une plante à son état normal ; 2° les parasites qui ne réussissent à pénétrer que dans les plantes déjà malades ; 3° les parasites qui ont besoin d'une blessure, d'un tissu mort pour arriver dans les tissus.

Avec ces derniers, on confine au saprophytisme proprement dit.

Il est vrai que cette distinction exigera une grande somme de travail et des observations bien conduites : il est même possible que le même champignon ne se comporte pas de la même manière avec toutes les plantes qu'il attaque.

Edouard Janczewski a pu obtenir les périthèces du *Cladosporium herbarum* et faire rentrer ainsi cette espèce dans le genre *Sphaerella* sous le nom de *S. Tulasnei*.

N'ayant pas réussi à voir ces organes dans l'espèce qui se développe sur le pommier, il nous est impossible jusqu'à présent de nous prononcer sur l'identité des deux espèces.

(1) Briosi et Cavara. I funghi parassiti delle piante coltivate, fasc. III-IV, n° 79.

(2) Sorauer. Die Untersuchung von Edward Janczewski über *Cladosporium herbarum* (Zeitschrift für Pflanzen Krankheiten IV, Band, 6 Heft, 1894).

REPONSE

A UNE NOTE DE MM. G. POIRAULT ET RACIBORSKI
SUR LA

KARYOKINÈSE CHEZ LES URÉDINÉES

Par M. P.-A. DANGEARD et SAPPIN-TROUFFY

Dans une Note à l'Académie des sciences (1), MM. G. Poirault et Raciborski sont arrivés aux conclusions suivantes :

« En résumé, disent-ils, 1° la karyokinèse des Urédinées est typiquement celle des plantes supérieures ; 2° le nombre des chromosomes paraît être constamment de deux, fait qui n'a été rencontré que très exceptionnellement chez les cellules animales (*Ascaris megalocephala* α *univalens*), et jamais jusqu'ici chez les végétaux ; 3° on n'observe aucune *division reductrice* lors de la formation des écidiospores, des spermaties et des téléutospores ; par conséquent, 4° en admettant même la fusion des noyaux de la téléutospore, on ne peut, sans être en contradiction avec les idées actuelles sur la fécondation, interpréter cette fusion comme un phénomène sexuel ; 5° les modifications de noyau qui accompagnent la maturation des spores de conservation (téléutospores) des Urédinées, et qui sont facilement observables sur le *Trachyspora Alchemillae*, correspondent absolument à celles qu'on a signalées dans les graines de Phanérogames, à cette différence près que, dans les Urédinées, il y a deux noyaux. »

Ces conclusions ne peuvent être acceptées ; elles reposent sur une erreur d'interprétation : ces auteurs ont pris la *division ordinaire, normale de deux noyaux voisins pour la division d'un noyau unique*.

Voici, en effet, comment ils décrivent la formation de la téléutospore :

« Si l'on suit le mode de formation des téléutospores dans le *Puccinia Liliacearum* Duby, on voit que les jeunes filaments sporigènes se rassemblent d'abord en buissons serrés au voisinage de la surface de la feuille.

« L'article terminal de chacun de ces filaments ne renferme qu'un seul gros noyau, où la substance chromatique est distribuée en un réseau à mailles serrées. Ce noyau contient un volumineux nucléole plus ou moins vacuolaire. La première phase de la division est caractérisée par la disparition de la membrane nucléaire et par la

(1) Comptes rendus, 15 juillet 1895.

bipartition du nucléole dont nous allons pouvoir suivre les deux moitiés pendant une grande partie de la karyokinèse. Puis la substance chromatique se rassemble en deux chromosomes courts et épais, dont la forme générale rappelle, à un certain moment, celle d'un chapeau à cloque et qui deviennent un peu plus tard plus ou moins quadrangulaires. Ces masses chromatiques s'allongent et leur scission longitudinale qui était déjà indiquée au stade précédent, devient maintenant très visible. Le noyau est alors réduit à quatre bâtonnets chromatiques amincis en leur milieu. C'est précisément au niveau du milieu de ces bâtonnets que l'on voit, à droite et à gauche, les deux nucléoles précédemment sortis du noyau et qui conservent cette position au voisinage du plan équatorial jusqu'à leur dissolution qui se produit vers le temps où les noyaux filles sont revenus au stade du peloton.

« L'étirement des masses chromatiques entre les deux pôles continuant, les deux moitiés de ses masses ne sont bientôt plus rattachées l'une à l'autre que par un mince filament qui finit par se rompre ; peu après, les deux moitiés de chaque chromosome se réunissant latéralement on voit, à chacun des pôles, deux masses chromatiques piriformes, dont la pointe est tournée vers l'équateur. A ce stade, les filaments achromatiques sont assez nettement visibles. A chacun des pôles, les deux chromosomes qui constitueront les noyaux filles se fondent et ne tardent pas à émettre de petits prolongements. Entre les mailles du réseau chromatique ainsi constitué, les nucléoles apparaissent. »

En réalité, les choses se passent d'une façon toute différente.

Le jeune article terminal qui produit la téléutospore contient un noyau nucléolé ordinaire qui abandonne latéralement son nucléole pour la division ; ce noyau s'allonge suivant l'axe et se sépare en deux : ces noyaux se placent côte à côte : ils sont très rapprochés à cause de l'étroitesse de l'article, mais néanmoins très distincts ; à leur intérieur apparaît un nucléole. Ces deux noyaux vont subir une division, et avant l'expulsion du nucléole qui la précède, la chromatine s'accumule d'un côté en forme d'arc.

MM. G. Poirault et Raciborski ont pris les deux noyaux nucléolés pour un seul noyau dont le nucléole subirait une bipartition ; les deux masses nucléaires de chaque noyau ont été considérées par eux comme les deux chromosomes d'un noyau unique.

Les deux noyaux s'allongent parallèlement suivant l'axe de la cellule, et ils abandonnent à droite et à gauche leur gros nucléole ; les deux masses chromatiques de chaque noyau restent réunies quelque temps par de fins trabécules avant la séparation définitive.

MM. G. Poirault et Raciborski ont vu dans ce stade si

simple de la division, quatre chromosomes provenant de la division des deux chromosomes d'un noyau unique ; ces auteurs arrivaient ainsi à signaler chez les Urédinées l'existence d'une structure du noyau excessivement rare chez les animaux et complètement inconnue chez les végétaux.

Les deux noyaux supérieurs de l'article *d'origine différente*, comme on l'a vu, se séparent par une cloison des deux noyaux inférieurs ; la cellule de la téléutospore se trouve donc tout naturellement constituée dès le début avec deux noyaux *cousins* et non *frères*.

MM. G. Poirault et Raciborski n'ont vu, dans ces deux noyaux, qu'un noyau unique à deux chromosomes : et ils ont été ainsi entraînés à admettre que les loges de la téléutospore ne renfermaient d'abord qu'un seul noyau.

L'origine des noyaux des écidiospores est la même que celle qui vient d'être décrite pour la téléutospore.

Si la téléutospore renferme plusieurs loges, la même division se produit ; ces noyaux s'allongent suivant l'axe et se divisent ; leur moitié supérieure se trouve séparée de la moitié inférieure par une cloison. Il en résulte que tous les noyaux sexuels destinés à se fusionner sont d'origine différente et séparés du noyau initial par un nombre plus ou moins grand de générations. Ce fait est général : *Uromyces*, *Puccinia*, *Gymnosporangium*, *Triphragmium*, *Phragmidium*, *Cronartium*, *Melampsora*, *Coleosporium*.

Nous n'ajouterons rien en ce qui concerne la fusion de ces noyaux en un seul noyau souche duquel proviendront tous les noyaux de la nouvelle plante. Malgré quelques réticences, il est aisé de voir que ces auteurs l'admettent, car ils disent : « D'ordinaire, ces deux noyaux sont si étroitement rapprochés qu'il est impossible de fixer leurs limites respectives et la cellule *semble* n'avoir qu'un noyau unique. »

Il y aurait de l'imprudence à nier l'existence de cette fusion ; il ne faut pas oublier en effet que cette fusion a été observée non seulement dans les téléutospores des divers genres d'Urédinées, mais encore chez les Ustilaginées, Ascomycètes et Basidiomycètes : le doute n'est plus permis.

L'origine des noyaux sexuels étant maintenant connue, nous avons lieu de croire que la reproduction sexuelle chez les Urédinées ne peut plus donner lieu à aucune objection sérieuse.

MÉMOIRE
SUR
LES PARASITES DU NOYAU
ET DU PROTOPLASMA

Par P.-A. DANGEARD

Ce Mémoire comprend deux Parties : dans la première, nous étudierons les parasites des éléments nucléaires ; dans la seconde, ceux du corps protoplasmique.

PREMIÈRE PARTIE

On connaît peu jusqu'ici les parasites des éléments nucléaires :

En 1856, J. Muller avait observé chez un Infusoire l'envahissement du corps nucléaire d'un Infusoire par un parasite (1) ; cette maladie a été étudiée depuis par plusieurs observateurs au nombre desquels il faut surtout citer Balbiani (2) et Bütschli (3), qui ont montré que chez

(1) J. Muller. *Quelques observations sur des Infusoires* (Monastb. d. Berliner Akad., 1856).

(2) Balbiani. *Recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés* (Recueil zoologique, Genève, 1888).

(3) O. Bütschli. *Bronn's Klassen und Ordnungen, Protozoa*, p. 1828, 1832.

un grand nombre d'Infusoires, tels que les *Paramœcium*, *Chilodon*, *Pleuronema*, *Prorodon*, *Stentor*, etc., le noyau et le nucléole peuvent être infectés par des Bactériacées.

Ce sont ces organismes qui ont fait considérer pendant quelque temps, chez les Infusoires ciliés, le nucléole pour un testicule (1) ; d'après Balbiani, les individus malades n'entrent jamais en conjugaison ; ils n'offrent rien de particulier, sauf que leur taille reste inférieure à celle des animaux sains ; ils peuvent même se diviser ainsi qu'il résulte d'une observation de Kölliker sur une Paramécie, dont le corpuscule additionnel du noyau était envahi par le parasite ; malgré cela, pendant la division, ce corpuscule se comporta tout à fait comme celui d'un individu normal (2).

Le travail le plus complet sur cette maladie des Infusoires est dû à M.-W. Haskine (3), qui a pu provoquer artificiellement une épidémie dans une série de cultures du *Paramœcium Aurelia* ; il est arrivé ainsi à distinguer trois espèces appartenant au genre *Holospora* : la première, qui habite le nucléole de l'Infusoire, est désignée sous le nom d'*H. undulata* ; la seconde, qui est distinguée sous le nom d'*H. obtusa*, attaque le noyau ; enfin la troisième envahit le petit nucléole ; elle a donc le même habitat que la première : c'est l'*H. elegans* ; ces deux espèces ne se rencontrent jamais ensemble sur le même individu.

Ces organismes se reproduisent par scissiparité et par bourgeonnement : aussi l'auteur propose-t-il de faire de ce petit groupe « une division intermédiaire formant un passage entre les véritables levures et les Schizomycètes et dont les divers représentants se trouveraient dans un

(1) Consulter Claparède et Lachmann : *Etudes sur les Infusoires et les Rhizopodes*, 3^e Partie.

(2) Kölliker. *Icones histologicæ*. Leipzig, 1864.

(3) M.-W. Haskine. *Maladies infectieuses des Paramécies* (Annales de l'Institut Pasteur, tome IV, 1890, p. 148-162).

voisinage plus étroit, tantôt avec un des groupes limitrophes, tantôt avec l'autre (1) ».

Balbiani a récemment décrit et figuré des parasites qui se rencontrent à l'intérieur du noyau du *Stentor polymorphus* (2).

« Ce sont évidemment, dit-il, des organismes parasites rappelant plus particulièrement les espèces formant le groupe des Holosporées intermédiaire entre les Bactériacées et les Blastomycètes ou levures, dont plusieurs ont pour habitat le nucléus et le micronucléus des Paramécies. »

Ainsi que le fait remarquer Balbiani, c'est un parasite appartenant au même groupe qui a été vu par Stein chez le *Stentor Roeselii* (3).

La question est loin d'être aussi avancée en ce qui concerne les Rhizopodes ; on peut même dire que si de nombreux auteurs ont eu l'occasion de rencontrer des aspects particuliers du noyau, produits par des parasites, aucun n'en a indiqué la véritable signification ; tous y ont vu, comme nous le montrerons plus loin, soit une simple modification de structure de ce noyau, soit une modification spéciale donnant naissance à des œufs ou à des spermatozoïdes ; les autres se sont bornés à de simples conjectures.

Nous commencerons par donner la description de ces parasites ; ils doivent constituer un genre nouveau pour lequel nous proposons le nom de *Nucleophaga* à cause de leur habitat si particulier ; ces parasites diffèrent nettement de ceux qui habitent le noyau des Infusoires ; ils appartiennent à des groupes fort différents.

(1) M.-W. Haffkine. *Loc. cit.*, p. 152-153,

(2) Balbiani. *Nouvelles recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés*, 2^e partie (Annales de micrographie, janvier 1893).

(3) Stein. *Der organismus der Infusionsthiere*, II Abth., p. 258, pl. VIII.

CHAPITRE PREMIER

Le Rhizopode qui nous a fourni ces observations, est une amibe de grande taille qui s'est développée en grande abondance dans une de nos cultures : c'est une des grandes formes du genre et on peut l'identifier à l'*Amœba verrucosa* Ehr. (1) ; ses pseudopodes, au nombre de cinq à dix environ, sont en général courts et obtus ; quelquefois, cependant, ils s'allongent davantage ou bien au contraire s'étendent en nappe. Comme dans la plupart des autres espèces, l'ectosarque est nettement distinct de l'endoplasma ; on n'y trouve qu'un protoplasma hyalin, dépourvu de granulations ; il se continue dans les pseudopodes ; son épaisseur est variable aux différents points de la surface. L'endoplasma a une structure plus compliquée : on le distingue facilement de l'ectosarque à la présence de nombreuses granulations ; il n'est pas rare d'y rencontrer une disposition trabéculaire très accentuée ; l'endoplasma est alors creusé d'alvéoles de diverses grandeurs, séparées par de minces cloisons ; une structure analogue se rencontre dans le *Pelomyxa* (?) dans l'*Amœba*

(1) Cette espèce n'est peut-être qu'une forme de l'*Amœba princeps* Ehr. ; la détermination des amibes est très difficile actuellement ; on ne connaît jusqu'ici aucune base solide de classification ; les distinctions spécifiques reposent sur des variations de formes dont on ne connaît pas l'amplitude.

(2) Greef. *Pelomyxa palustris* ein amoebenartiger organismus des süssen Wassers (Archiv. f. micros. Anatomie, Bd. x, 1873-1874).

alveolata (1), les *Lithamœba* (2), le *Plakopus ruber* (3); dans notre espèce, le protoplasma peut également se raréfier, les mailles du réseau deviennent peu nombreuses, grandes et irrégulières; d'autres fois, on distingue seulement dans l'endoplasma granuleux quelques vacuoles ordinaires sphériques. On sait d'autre part que la vacuole contractile occupe dans l'*Amœba verrucosa* la partie postérieure du corps.

Il est facile d'observer la formation des vacuoles diges-

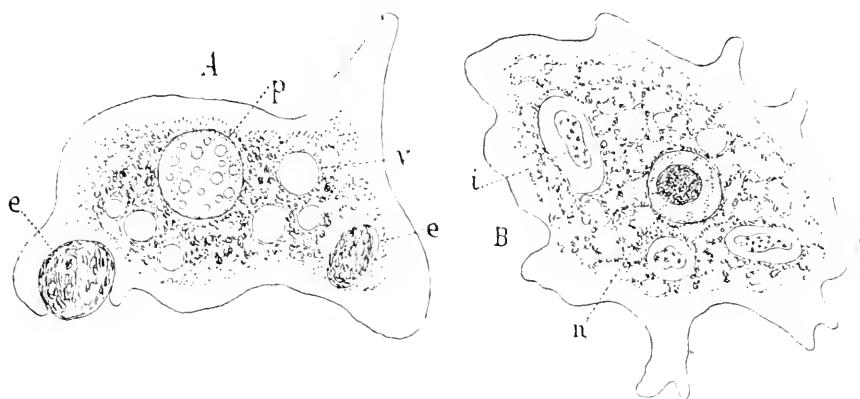


FIG 1. — *A* Amibe ingérant une Euglène *e*; *p* Nucléophage à protoplasma vacuolaire, ayant remplacé le noyau; *v* vacuole. *B* Individu dont le noyau *n* est encore intact; *i* aliments situés à l'intérieur d'une vacuole digestive.

tives dans cette espèce; le plus simple est de verser dans la cuvette qui la contient une culture d'Euglènes; on voit bientôt toutes les amibes se colorer en vert; certaines renferment de cinq à sept Euglènes et même davantage. La préhension se fait avec une grande rapidité; en moins d'une minute, l'Euglène qui se trouve au contact du Rhi-

(1) Mereschkowsky. *Studien über die Protozoön des nordl. Russlands* (Archiv. f. mikrosk. Anatomie, Bd. XVI).

(2) R. Lankester. *Quat. journ. micr. sc.*, XIX.

(3) Schulze. *Rhizopodenstudien* (Archiv. f. micros. Anatomie, Bd. XI, 1875).

zopode, est entourée par le protoplasma qui remonte tout autour en forme de cupule et finit par rejoindre ses bords ; la vacuole digestive se trouve ainsi constituée par une invagination de l'ectosarque et elle renferme une Euglène avec un peu du liquide de la culture (fig. 1, A) ; on peut rencontrer deux Euglènes dans la même vacuole, ce qui résulte certainement d'une fusion de deux vacuoles voisines.

La manière dont s'opère la digestion à l'intérieur des vacuoles chez les Protozoaires n'est pas encore complètement élucidée : la question a cependant fait un grand pas dans ces dernières années avec les travaux de Metchnikoff (1), de F. Le Dantec (2), de Greenwood et Saunders (3) ; on sait que, dans les premiers temps de l'existence d'une vacuole digestive, une sécrétion acide s'y produit qui modifie le milieu primitivement alcalin et le rend, dans la plupart des cas, effectivement acide (Le Dantec) ; mais on ignore encore si la digestion s'effectue réellement dans ce milieu acide au moyen de diastases (Le Dantec), ou bien si elle a lieu au contraire dans un milieu redevenu alcalin (Greenwood et Saunders).

Nous allons maintenant nous occuper de la structure du noyau : nous verrons d'abord quelle est sa structure normale, avant d'aborder l'étude des modifications qu'y produit la présence d'un parasite.

(1) E. Metchnikoff. *Recherches sur la digestion intracellulaire* (Ann. Institut Pasteur, 1889).

(2) F. Le Dantec. *Recherches sur la digestion intracellulaire chez les Protozoaires* (Bulletin scientifique de la France et de la Belgique, tome XXIII, 1891, 2). — *Note sur quelques phénomènes intracellulaires* (Id. tome XXV, 1893, 2). — *Etudes biologiques comparatives sur les Rhizopodes lobés et réticulés d'eau douce* (Id. tome XXVI, 1894).

(3) Greenwood. *On the constitution and mode of formation of food vacuoles in Infusoria* (Proceedings of the Royal Society, vol. 54, octobre 1893). — Greenwood et Saunders. — *On the rôle of acid in Protozoan digestion*.

Butschli attribue aux amibes un nombre variable de noyaux ; alors que ce nombre est souvent très faible, il peut atteindre dans certains cas plusieurs centaines : ainsi dans l'*Amœba princeps* (1), ce savant a rencontré à côté d'individus ne possédant qu'un seul noyau, d'autres individus qui en avaient jusqu'à 200 ; il ignore la signification de ce fait tout en reconnaissant qu'il doit se rattacher au développement de ces êtres (2) ; une variation aussi considérable du nombre des noyaux chez les amibes est, comme nous le verrons, peu vraisemblable dans l'*Amœba verrucosa* ; tous les individus examinés n'ont jamais présenté qu'un noyau unique.

Ce noyau est gros (fig. 1, B) ; il est limité par une membrane à double contour ; on trouve à son intérieur un nucléole dont le diamètre égale les $\frac{2}{3}$ de celui du noyau ; la substance de ce nucléole est très dense ; elle se colore avec une grande intensité sous l'influence des divers réactifs nucléaires ; en général, on n'y distingue aucune structure particulière ; parfois cependant, la substance colorable est disposée en un réseau à mailles très fines. Entre ce nucléole et la membrane nucléaire, s'étend un espace rempli en grande partie de suc nucléaire : des granulations chromatiques très petites s'y montrent souvent disposées en réseau.

Ce noyau, qui se trouve au milieu de l'endoplasme, est en général sphérique, ainsi que le nucléole ; ce dernier n'occupe pas exactement le centre.

La structure du noyau chez les autres espèces d'amibes ne s'accorde guère avec celle qui vient d'être décrite, si nous en croyons les observations fournies par quelques auteurs ; ainsi, d'après Bütschli, l'*Amœba princeps*, si voisine à d'autres égards de l'*Amœba verrucosa*, montre

(1) O. Bütschli. *Abh. d. Senckenb naturf. Gesellsch.* x, p. 164.

(2) O. Bütschli. *Protozoa.* Loc. cit., p. 108-109.

deux sortes de noyaux. Dans les individus qui possèdent un grand nombre de noyaux, ceux-ci sont arrondis et offrent sous la membrane nucléaire, une couche de corpuscules sombres disposés en une assise unique; dans les individus qui ne possèdent qu'un noyau, ce noyau beaucoup plus gros, ovale, montre sous la membrane nucléaire un réseau de trabécules finement granu-

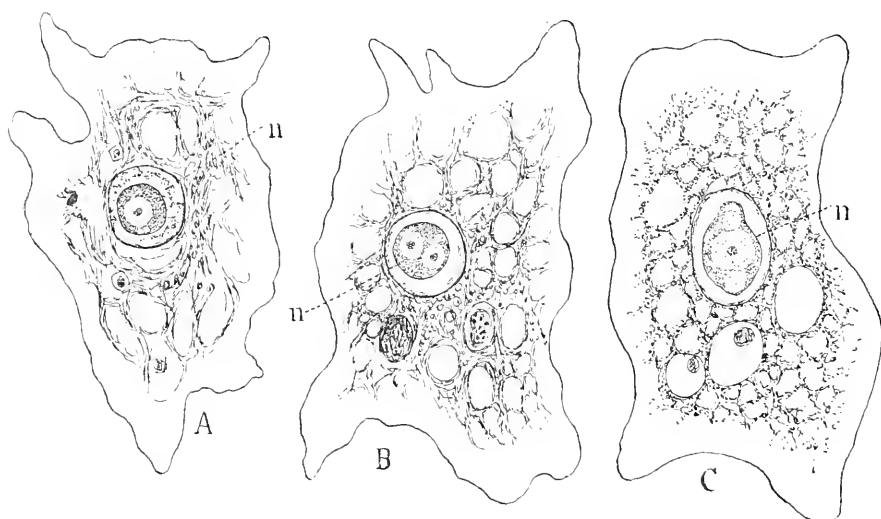


FIG. 2. — A Amibe dont le nucléole *n* ne renferme qu'un seul parasite B Le nucléole renferme des parasites nucléaires. C Le noyau est allongé, elliptique et le nucléole contient trois parasites.

leux (1). Dans l'*Amœba terricola* de Greef (2), les noyaux seraient complètement remplis de petits corpuscules sphériques; nous verrons plus loin quelle est l'interprétation qu'il faut donner à cette apparence.

Quoi qu'il en soit, dans le noyau de l'*Amœba verrucosa*, on voit, d'après cette description, que la presque totalité des

(1) Bütschli. *Protozoa*, p. 113.

(2) Greef. *Ueber einige in der Erde lebende amöben und andere Rhizopoden* (Archiv. f. micros. Anat., Bd. II, 1866).

substances de réserve se trouvent emmagasinées dans un très gros nucléole ; aussi est-ce à l'intérieur même de ce nucléole que va pénétrer le parasite qui fait l'objet principal de cette étude.

Le parasite se montre à l'intérieur du noyau de l'amibe et tout à fait au début sous l'aspect d'une vacuole au centre de laquelle se voit une tache sombre (fig. 2, A) ; la vacuole augmente de volume ; la substance colorable du nucléole disparaît peu à peu ; il n'en reste bientôt plus qu'une couche mince périphérique ; c'est à ce moment que le nombre des taches sombres augmente : on en trouve alors deux ou un plus grand nombre.

Sous l'influence du parasite, il se produit une hypertrophie du noyau : elle débute par le nucléole dont la mince couche superficielle, distendue par le parasite, tend à venir tapisser intérieurement la membrane nucléaire (fig. 3, A, B, C).

L'enveloppe de chromatine du nucléole montre, si les conditions d'observation sont bonnes, une petite ouverture circulaire qui paraît découpée à l'emporte-pièce (fig. 3, B, C).

Ces diverses modifications d'aspect du nucléole m'ont longtemps intrigué ; elles ne correspondaient à rien de ce que l'on sait sur cet organe. La notion d'un parasite nucléaire, lorsqu'elle s'est présentée à notre esprit, a eu vite fait de nous éclairer sur ces phénomènes, ainsi que sur les modifications ultérieures du noyau.

La vacuole n'est autre chose que la substance même du parasite ; ce dernier a pénétré à l'intérieur du nucléole par l'ouverture circulaire que nous venons de signaler, et la grandeur de cette ouverture indique approximativement la grosseur du parasite à son entrée dans le noyau ; la tache sombre qui se trouve au centre de la vacuole, correspond à la présence d'un seul élément nucléaire à l'intérieur du parasite jeune.

Si la vacuole augmente de volume, c'est que le parasite se nourrit en digérant peu à peu la chromatine du nucléole ; c'est l'état végétatif pendant lequel le noyau reste unique.

La digestion semble bien s'opérer superficiellement, comme chez tous les végétaux, du moins, nous n'avons jamais vu, dans les nombreux cas observés, la substance

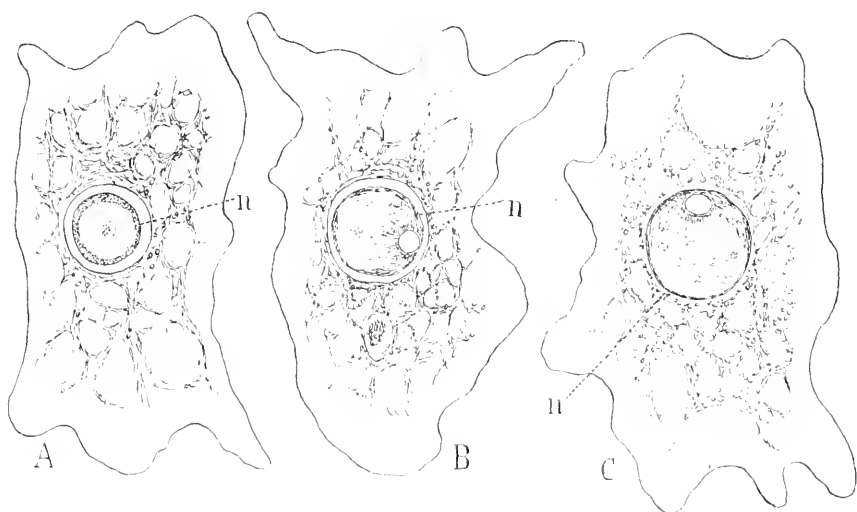


FIG. 3. — Stades plus âgés du *Nucleophaga* ; en *B* et en *C* on voit l'ouverture circulaire par laquelle le parasite a pénétré.

nucléolaire pénétrer dans le protoplasma du parasite ; nous n'avons jamais constaté d'autre part la présence de résidus digestifs à l'intérieur de ce protoplasme ; la séparation entre la vacuole, c'est-à-dire le parasite, et la chromatine du nucléole reste nette.

La substance du nucléole étant naturellement très nutritive et très condensée fournit au parasite qui l'assimile *in toto* un volume supérieur à celui qu'elle occupait ; il en résulte que le parasite effectue une pression sur la couche qui l'entoure, ce qui explique l'hypertrophie du nucléole.

C'est au moment où le parasite tend à occuper toute la cavité nucléaire que son noyau, d'abord unique, commence à se diviser; le protoplasma qui entoure ce noyau est clair, dépourvu de granulations : on n'y remarque aucune différenciation particulière ; aussi, comme ces noyaux sont très réfringents, les voit-on sans l'aide d'aucun réactif.

Nous avons choisi le cas le plus simple, celui où il n'y a qu'un seul parasite à l'intérieur du noyau de l'amibe ; mais assez fréquemment, il en existe plusieurs ; on voit alors dans le nucléole tout autant de vacuoles qu'il y a d'individus distincts ; ainsi nous trouvons dans la fig. 2, C, un noyau dont le nucléole montre trois parasites ; celui du milieu est plus gros que les deux autres ; c'est lui qui a pénétré le premier dans le nucléole ; d'autres fois on rencontre, dans le même nucléole, quatre parasites et même davantage (fig. 5, B).

Lorsque le parasite est arrivé au contact de la membrane nucléaire, il continue à grossir, et son volume définitif qui varie dans de larges limites, peut atteindre de très grandes dimensions (fig. 4, 5).

Pendant cet accroissement, le protoplasma du parasite change de caractère : il reste homogène, mais sa densité augmente ; à la surface, on distingue une mince membrane à l'extérieur de laquelle on reconnaît encore pendant quelque temps les traces de la membrane nucléaire.

L'examen direct nous a permis de suivre l'augmentation du nombre des noyaux qui se produit en même temps que cet accroissement ; pour être certain que les taches rondes que l'on observe dans le protoplasma sont bien des noyaux, il suffit de fixer et de colorer au moyen des méthodes ordinaires. A la vérité, les détails de structure de ces noyaux sont difficiles à mettre en évidence, car le protoplasma qui les entoure est lui-même assez sensible aux réactifs colorants ; cependant, nous croyons pouvoir dire à la suite d'un examen minutieux de très bonnes

préparations, que ces noyaux ont la structure ordinaire, qu'ils sont nucléolés et possèdent une membranue nucléaire (fig. 4, D); mais le plus souvent, on n'arrive à voir ces noyaux que sous la forme de taches arrondies plus colorées que le reste (fig. 4, F).

Jamais il ne nous a été donné d'observer un cas net de

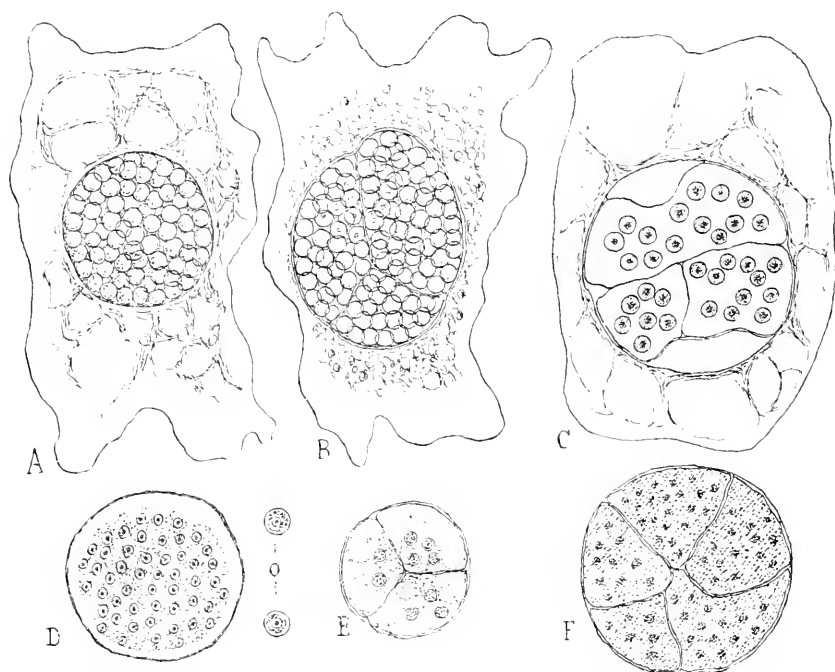


FIG. 4. — A, D Spores simples. B, E, C, F Spores composés résultant de la présence de plusieurs parasites à l'intérieur du même noyau.

division, et cependant ces divisions sont actives, car le nombre de ces noyaux, au moment où la sporulation va se produire, dépasse souvent plus d'une centaine; ils s'espacent alors régulièrement et autour de chacun d'eux s'organise une zoospore. Le sporange ressemble à ce moment à une grosse mûre: il renferme autant de corpuscules arrondis, distincts, qu'il y avait de noyaux au moment de la sporulation (fig. 4, A).

La formation de zoospores dans un même sporange paraît se faire simultanément, et il faut bien se garder d'être trompé par les différents aspects qui se présentent lorsque le noyau a donné asile à plusieurs parasites (fig. 4, B, C, E, F) ; ces aspects ont déjà été pris par certains observateurs pour la division même du noyau de l'amibe ; ils pourraient également faire croire à des bipartitions successives du sporange pour la formation des

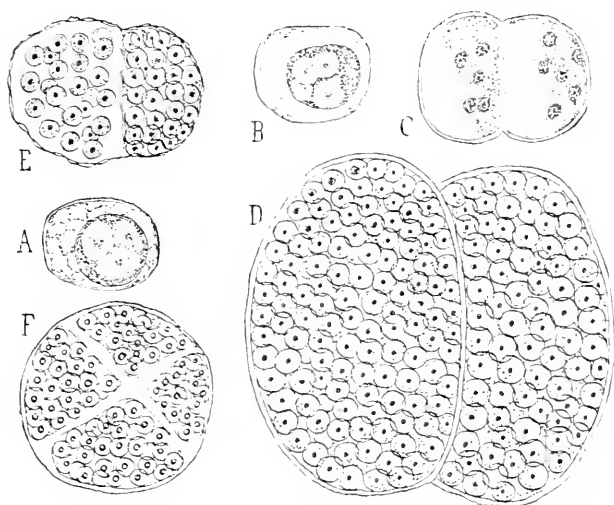


FIG. 5. — A, B Plusieurs parasites à l'intérieur du même nucléole. C, D, E Parasites associés par deux. F germe endogène contenant quatre sporanges.

spores ; ou bien encore, on pourrait les confondre avec des sporanges composés, tels que ceux qui se rencontrent dans les *Synchytrium*, par exemple.

Le cas le plus simple est celui où le sporange semble divisé en deux loges (fig. 5) ; la séparation s'observe de très bonne heure et au moment de la sporulation, l'aspect définitif est celui d'un sporange cloisonné (fig. 5, C, E) ou bien de deux sporanges distincts (fig. 5, D).

La même observation s'applique aux cas où il existe quatre loges ; lorsqu'on n'a pas suivi le développement

entier du parasite, on songe tout naturellement à deux bipartitions successives en croix de l'organe (fig. 5, F).

Enfin, on trouve des cas où le nombre des loges est plus élevé (fig. 4, F, C).

Si l'on remarque que beaucoup de sporanges au moment de la sporulation ne sont point cloisonnés, on pourra écarter l'hypothèse qui, *a priori*, pourrait être acceptée : celle de la formation de sporanges composés dans ce genre.

Il ne reste plus alors pour expliquer ces divers aspects que la seule considération qui découle directement de l'étude du développement; nous avons vu que plusieurs parasites pouvaient se développer côte à côte à l'intérieur du nucléole : chacun d'eux donne naissance à un sporange ; ceux-ci se trouvent forcément en contact étroit ; ils se compriment réciproquement et l'ensemble prend la forme d'un sporange unique composé d'autant de loges qu'il y avait d'individus dans le même noyau.

Nous avons désigné les spores qui sont contenues à l'intérieur des sporanges sous le nom de zoospores ; mais nous devons ajouter que nous ne les avons jamais vues en mouvement ; la chose ne nous paraît pas douteuse cependant. Ces zoospores, malgré leur petitesse, peuvent être étudiées histologiquement ; elles sont entourées d'une mince membrane ; au centre se trouve un petit noyau nucléolé ; le nucléole est très petit et il est séparé de la membrane nucléaire par une zone incolore (fig. 4, E) ; le protoplasma qui entoure le noyau est homogène, mais il se colore bien et semble être assez dense ; il est dépourvu de granulations, et la zoospore qui a pénétré à l'intérieur du nucléole, se présente sous l'aspect d'une vacuole. Il n'est pas rare de voir des sporanges ne renfermant plus que quelques zoospores ; d'autre part, on rencontre des Rhizopodes dans lesquels on trouve ces zoospores en dehors du noyau, dans l'endoplasma ; mais

jamais elles ne s'y développent : ce parasite est donc exclusivement intranucléaire.

Les amibes, dont le noyau a été ainsi envahi, continuent à vivre ; elles se meuvent au moyen de leurs pseudopodes ; elles prennent des aliments et les digèrent ; les fonctions ne paraissent avoir subi aucune perturbation sensible.

Nous pouvons prendre une amibe comme celle de la fig. 1, A ; l'endoplasma a la structure normale ; il renferme de nombreuses granulations et des vacuoles de diverses grandeurs ; il n'existe plus trace de noyau ni de substance nucléaire ; depuis longtemps, le parasite a tout absorbé ; on peut dire qu'il remplace le noyau ; son protoplasma est écumeux par suite de la présence de nombreuses vacuoles. Cependant cette amibe sans noyau se déplace ; elle effectue normalement la préhension des aliments qui, dans le cas présent, se composent d'Euglènes, et rien ne la distingue à première vue des autres amibes à noyau intact, qui se trouvent dans la même culture.

Le sporange va atteindre sa maturité avant la mort de l'amibe ; il va former ses zoospores, ce qui n'empêchera nullement l'ectosarque de continuer encore quelque temps à émettre des pseudopodes.

Il y a une concordance remarquable entre le moment où le parasite arrive à maturité et forme ses éléments reproducteurs, et celui où l'amibe est sur le point de se désagréger ; cela répond à une nécessité physiologique. Si l'amibe disparaissait avant le complet développement des germes, ceux-ci seraient infailliblement condamnés à disparaître ; d'un autre côté, pour que les spores puissent devenir libres après leur formation, il est nécessaire que le protoplasma de l'amibe se désagrège ; on voit alors le protoplasma se séparer en globules oléagineux de différentes grosseurs.

Ce sont les relations si étroites que nous venons de signaler entre le parasite et son hôte qui ont masqué

jusqu'à ce jour la véritable nature de ces phénomènes si intéressants.

Nous devons maintenant examiner quelle peut être la place de ce parasite dans la classification ; le mode de sporulation rappelle à la fois celui des Monadinées zoosporées et celui des Chytridinées ; mais nous savons que chez les Monadinées zoosporées, la nutrition est animale : les aliments sont introduits et digérés à l'intérieur du protoplasma ; c'est autour des résidus, dans le sporange, que s'organisent les zoospores (1). Dans notre espèce, il n'existe aucune trace de pénétration des aliments à l'intérieur du corps : la digestion se fait superficiellement comme chez tous les végétaux : le sporange ne renferme pas de résidus digestifs ; le parasite paraît bien devoir être placé dans la famille des Chytridinées.

Dans cette famille, le sporange possède ordinairement une ou plusieurs ouvertures pour la sortie des zoospores (2) ; elles semblent manquer à nos parasites, et ce caractère tend à les rapprocher des Monadinées zoosporées dans lesquelles les zoospores sortent au travers de l'enveloppe du sporange ; ils devraient ainsi prendre place à la base des Chytridinées, au voisinage du genre *Sphaerita*. Dang.

Nous donnerons à ce nouveau genre le nom de *Nucleophaga* destiné à rappeler son mode de vie si particulier : l'espèce qui vit sur les amibes sera le *Nucleophaga amœbæ* sp. nov.

Il y aura lieu de rechercher si les germes endogènes des autres Rhizopodes appartiennent à cette espèce, ou constituent des espèces distinctes.

(1) P.-A. Dangeard, *Recherches sur les organismes inférieurs* (Ann. sc. nat., 7^e Série, Bot., T. IV).

(2) Consulter la récente monographie du Dr A. Fischer (*Rabenhorst's Kryptogamen-Flora*, 2^e édition, vol. I, 4^e partie, 1893).

CHAPITRE II

Dans ce chapitre, nous examinerons quelles sont les conséquences de la découverte bien établie d'un parasite vivant à l'intérieur du noyau des amibes.

A. — Elle permet de rectifier les opinions émises au sujet de la reproduction des Rhizopodes.

B. — Elle facilite l'étude ultérieure des noyaux dans ce groupe.

C. — Elle fournit une nouvelle méthode pour l'étude du rôle des divers éléments de la cellule dans les fonctions vitales.

L'opération de la mérotomie (Balbiani) a permis de rechercher le rôle du noyau dans la cellule ; les résultats obtenus peuvent être vérifiés au moyen de la nouvelle méthode que l'on pourra désigner sous le nom de nucléophagie ; cette dernière est applicable dans certains cas où la mérotomie ne peut réussir.

D. — Elle intéresse la pathologie générale, car il peut exister chez les plantes, chez les animaux et même chez l'homme des maladies analogues dans lesquelles seuls les noyaux seraient atteints.

Ces divers paragraphes ont besoin d'être quelque peu développés.

A

Il nous a fallu parcourir une longue série de travaux, afin de nous rendre compte des nombreuses erreurs d'interprétation qui ont été causées par la présence des Nucléophages à l'intérieur du noyau des Rhizopodes.

Les premiers observateurs qui ont vu ces germes parasites, ont eu immédiatement l'idée d'une reproduction sexuelle et on ne saurait leur en faire le moindre reproche, tant la chose paraissait naturelle.

Carter décrit en 1856 (1), chez les Rhizopodes, des ovules et des spermatozoïdes; ces derniers viendraient du noyau qui grossit, devient uniformément granuleux, se divise en segments dans lesquels prennent naissance les spermatozoïdes; ce sont les divers stades du développement des Nucléophages qui lui ont servi pour la description des éléments sexuels chez les amibes; c'est incontestablement un parasite, peut-être le même, qui a fourni au même auteur la description des ovules et des spermatozoïdes de l'*Euglypha alveolata*.

Dans une seconde note (2) Carter décrit, dans l'*Amœba verrucosa*, les formations qu'il considère comme des ovules; il ajoute que ces ovules prennent naissance en avril et qu'ils semblent exiger neuf mois pour arriver à maturité! Les figures ne laissent aucun doute; il s'agit bien de notre parasite.

Les observations de Wallich sont trop incomplètes pour permettre une semblable identification; mais cepen-

(1) Carter. *Notes on the Freshwater Infusoria of the Island of Bombay* (Ann. mag. nat. hist., 2^e série, vol. XVIII, 1856, p. 115-121).

(2) Carter. *Additional notes on the Freshwater Infusoria in the Island of Bombay* (Ann. mag. nat. hist., 2^e série, vol. XX, 1857, p. 37).

dant l'aspect de la fig. 5 la rend tout au moins très vraisemblable (1).

Avec le mémoire de Greef sur l'*Amœba terricola* (2), nous nous trouvons en présence de recherches plus sérieuses ; sans doute, l'auteur n'a pas compris qu'il avait affaire à un parasite ; mais il a bien vu le noyau devenir *vacuolaire* avant la formation des spores ; il considère ces dernières comme des amibes jeunes ; le noyau qui leur a donné naissance reçoit le nom de « Keimkorn ». Greef a vu ces spores perdre leur forme globuleuse, émettre des pseudopodes ; et il est persuadé qu'elles vont se transformer graduellement en amibes de taille normale ; en réalité, si l'idée de parasitisme s'était présentée à son esprit, il aurait sans doute vu ces prétendues jeunes amibes pénétrer dans le noyau du Rhizopode pour y recommencer le même cycle de développement.

Un nouveau travail de Carter ne nous apprend rien de plus que les précédents ; les idées de l'auteur sur la reproduction sexuelle des Rhizopodes semblent devenir de plus en plus indécises (3) ; ces mêmes formes de germes endogènes ne sont pas l'objet d'une meilleure interprétation de la part de Wallich qui proclame l'hermaphroditisme des Rhizopodes, tout en reconnaissant que pour le moment, il est impossible de distinguer les uns des autres les organes mâles et femelles (4).

La notion de reproduction sexuelle s'effectuant par le

(1) G. C. Wallich. *Observations on an undescribed indigenous Amœba* (Annal. mag. nat. hist., 3^e série, 1863, p. 365).

(2) Greef. *Ueber einige in der Erde lebende Amœben und andere Rhizopoden* (Archiv. f. mik. Anat., 2, 1866, p. 299).

(3) Carter. *On Amœba princeps and its reproductive cells compared with Æthelium, Pythium, Mucor and Achlya* (Ann. mag. nat. hist., 3^e série, 12, 1863).

(4) Wallich. *Further observation on the distinctive characters, habits and reproductive Phenomena of the Amœban Rhizopods* (Ann. mag. nat. hist., 3^e série, 12, 1863, p. 448).

moyen d'ovules et de spermatozoïdes n'est pas la seule interprétation fautive causée par l'existence des Nucléophages ; plusieurs auteurs ont avancé que le noyau était susceptible de fournir directement en se divisant, de jeunes individus : c'était l'opinion de Greef en ce qui concerne l'*Amœba terricola* ainsi que nous l'avons vu. Dans un second mémoire, Greef décrit un mode de reproduction du même genre, quoique plus compliqué ; dans le *Pelomyxa palustris* (1), les noyaux donneraient naissance, à leur intérieur, à des corpuscules arrondis désignés du nom de « kernkorper » ; ces derniers se transformeraient en « glanzkorper » qui arriveraient finalement à reproduire le *Pelomyxa*. Dans ce même ordre d'idées, il est à peine besoin de mentionner les observations de Wright (2) à propos des *Boderia*, chez lesquels on trouve un ou plusieurs nucléus ou « ova », puis finalement une nuée de corps naviculaires qui produisent au bout d'un ou deux jours de petites amibes.

Enfin, Buck se trouve conduit à décrire deux modes de division du noyau chez les Rhizopodes (3) ; dans l'un, il y a division du noyau et de la zone qui l'entoure ; il en résulte un germe d'aspect mûriforme qui se fragmente en corpuscules arrondis ; dans le second mode, la division n'atteint que le noyau à l'exclusion de la zone limitante.

D'après ce qui précède, on s'explique bien le grand embarras éprouvé par Bütschli, lorsqu'il s'occupe de la reproduction des Rhizopodes (4).

(1) Greef. *Pelomyxa palustris*, ein amobenartiger organismus des süßen Wassers (Archiv. f. mikr. Anat., 10, 1873-1874, p. 51).

(2) T. S. Wright. *Observation on British Zoophytes and Protozoa* (Journal of anatomy and physiology, série I, 1866-1867, p. 332).

(3) E. Buck. *Einige Rhizopodenstudien* (Zeitschrift f. wiss. zoologie, 30, 1878, p. 4-45).

(4) Bütschli. *Bronn's Klassen und ordnungen des Thierreichs*, vol. I, Protozoa, p. 156.

Désormais, l'existence bien démontrée du parasitisme des Nucléophages permet de faire table rase de toutes ces observations ; ce n'est pas dans cette direction qu'il faut chercher la reproduction sexuelle de Rhizopodes ; ces êtres ne possèdent certainement ni ovules ni spermatozoïdes.

Si la reproduction sexuelle existe chez les Rhizopodes, ce qui paraît probable, on la trouvera sans doute sous la forme d'une simple fusion de deux noyaux s'opérant après la conjugaison de deux individus ; nous pensons du moins que les recherches doivent être dirigées tout d'abord de ce côté.

B

Lorsqu'on cherche à envisager dans son ensemble la question des noyaux chez les Rhizopodes, on se trouve en présence de nombreuses difficultés ; les renseignements que nous possédons sur ce sujet sont souvent contradictoires.

En ce qui concerne les amibes particulièrement, il existe de grandes divergences ; les unes portent sur la structure de ces éléments, les autres sur leur nombre.

Auerbach est l'un des premiers qui les ait bien indiqués sous forme de vésicules pourvues d'un gros nucléole (1) ; c'est ce même aspect et cette même structure que nous trouvons représentés dans un des derniers travaux sur les Rhizopodes (2).

Cependant, d'après Bütschli, l'*Amœba princeps* possède

(1) Auerbach. *Ueber die Einzelligkeit der Amœben* (Zeitschr. f. wis. zool. 1855-1856, p. 365).

(2) R. Lauterborn. *Protozoenstudien. III Ueber eine Susswasserart der Gattung Multicilia* (Zeitschr. f. wiss. zool. LX, Band, 2^e Heft, 1895).

deux sortes de noyaux ; ainsi, les nombreux petits noyaux sphériques qui appartiennent à certains individus de cette espèce, montrent, sous la membrane nucléaire, une assise de petits corpuscules sombres ; dans les individus uninucléés ou paucinucléés, le noyau est beaucoup plus gros et de forme ovale ; la zone des corpuscules est remplacée par une sorte de réseau irrégulier qui n'est pas sans analogie avec un réseau chromatique (1).

D'autre part, d'après le même savant, le nombre des noyaux dans cette espèce est soumis à des variations considérables ; beaucoup d'individus n'ont qu'un seul noyau, mais quelques-uns en possèdent jusqu'à cent et même deux cents. On trouverait d'ailleurs tous les intermédiaires et la même chose existerait également dans l'*Amœba Blattæ*.

Une autre structure des noyaux a été signalée dans l'*Amœba terricola* ; le noyau se remplit entièrement de corpuscules arrondis (2) ; il en est de même dans l'*Amphizonella violacea*.

Chez les Arcelles, le nombre normal des noyaux est de deux ; ils sont opposés l'un à l'autre ; ce nombre s'élève à quatre au moment de la division. On a signalé cependant une bien plus grande multiplicité des noyaux dans ce genre : Auerbach en a vu jusqu'à quarante ; Claparède et Lachmann disent qu'on trouve souvent des individus qui ne possèdent qu'un seul nucléus : mais il n'est pas rare cependant d'en rencontrer qui en ont douze à quinze ; ce sont des disques transparents portant au centre un nucléole plus obscur (3). Carter n'a vu que les

(1) Bütschli. *Studien über die ersten Entwicklungs vorgänge der Eizelle, die Zelltheilung und die conjugation der Infusorien*, p. 213-452 (Abh. der. Senckenberg. naturf. Gesellsch. X, p. 164) et Bütschli *Protozoa*, loc. cit., p. 113-114.

(2) Greef. *Loc. cit.*

(3) Claparède et Lachmann. *Etudes sur les Infusoires*, p. 444-445.

deux noyaux ordinaires ; mais il a rencontré à l'intérieur des Arcelles un grand nombre de sphères qu'il désigne sous le nom de « cellules reproductrices » (1).

Dans le genre *Diffugia*, on a observé des phénomènes analogues ; en général, il n'existe qu'un noyau placé à la partie postérieure du corps : Hertwig a cependant rencontré des individus de *Diffugia proteiformis* qui renfermaient une quarantaine de noyaux (2).

Nous n'avons pas l'intention de continuer plus loin cette revue des variations qui ont été signalées dans le noyau des Rhizopodes ; elles sont toutes du même genre. Nous voulons seulement faire remarquer les causes d'erreur 1° en ce qui concerne le nombre de ces noyaux ; 2° en ce qui a rapport à leur structure ; 3° en ce qui a trait à leur division.

1° Le nombre des noyaux est certainement susceptible de varier dans une même espèce, mais en général dans des limites restreintes ; l'augmentation peut provenir principalement du fait de la réunion en plasmodes de plusieurs individus uninucléés ou paucinucléés comme les *Nuclearia*, les *Platoom*, etc. (3) ; ou bien il résulte des divisions successives d'un noyau primitif, comme chez les *Actinosphaerium* ; plus rarement, il semble, le nombre des noyaux est très élevé à tous les stades de l'existence, comme chez les Vampyrelles (4).

Il faut bien se garder de considérer comme noyaux, ainsi qu'on l'a fait souvent, des éléments étrangers, tels que les spores des Nucléophages et autres parasites analogues.

(1) Carter. *On Freshwater Rhizopoda of England and India* (Ann. mag. nat. hist., 3^e série, 13, 1864).

(2) R. Hertwig. *Jenaische Zeitsch. f. Naturwis.*, Bd. XI.

(3) P.-A. Dangeard. *Mémoire sur quelques maladies des algues et des animaux*. (Le Botaniste, 2^e série, 6^e fascicule, août 1891).

(4) P.-A. Dangeard. *Contribution à l'étude des organismes inférieurs* (Le Botaniste, 2^e série, 1^{er} fascicule, p. 33).

2° La structure du noyau des Rhizopodes a été fréquemment mal interprétée, ce qui est la cause des divergences nombreuses que nous avons signalées précédemment. Il est facile de voir, principalement pour les amibes, que toutes ces erreurs sont imputables aux parasites du noyau; on a décrit comme structure du noyau les divers stades du développement des Nucléophages.

3° Les mêmes observations s'appliquent tout naturellement aux divisions du noyau; celui-ci ne subit pas, sous la membrane nucléaire, une série de bipartitions successives; il ne se fractionne pas davantage simultanément en nombreux corpuscules; ces états se rapportent à la sporulation des Nucléophages.

C

On est arrivé, dans ces dernières années, à mieux apprécier les rôles respectifs du noyau et du protoplasma dans la cellule; ce résultat est dû aux remarquables travaux de Balbiani (1), Verworn (2), Hofer (3).

Nous empruntons à un mémoire récent de Balbiani (4) les conclusions générales très importantes qu'il a formulées sur ce sujet.

1° Chez les Infusoires ciliés, qui peuvent être consi-

(1) Balbiani. *Recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés*. — *Contribution à l'étude du rôle physiologique du noyau cellulaire* (Recueil zoologique suisse, t. V, 1888, p. 1-72).

(2) Verworn. *Biologische Protisten-Studien* (Zeitsch. f. wiss. zool. t. XLVI, 1888, p. 455). — *Psycho-physiologische Protisten-Studien. Experimentelle Untersuchungen*, 1889.

(3) B. Hofer. *Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss des Kerns auf das protoplasma* (Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft, t. XXIV, 1890, p. 405).

(4) Balbiani. *Nouvelles recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés* (Annales de micrographie, 1893).

dérés comme un type des plus favorables pour l'étude physiologique des cellules, certaines fonctions sont remplies par le protoplasma seul et d'autres concurremment par le protoplasma et le noyau.

2° Les fonctions qui dépendent uniquement du protoplasma sont :

a) Les différentes formes de mouvement : mouvement ciliaire, mouvement d'ingestion et d'égestion des aliments (mouvements de la bouche et de l'anus), les pulsations de la vésicule contractile, le mouvement de constriction du corps au commencement de la division.

b) La faculté d'orientation du corps pendant la progression.

3° Les fonctions qui sont exercées concurremment par le protoplasma et le noyau sont :

a) Les diverses sécrétions cellulaires : sécrétion de la cuticule, sécrétion du suc acide dans les vacuoles alimentaires et peut-être aussi des autres sucs digestifs ;

b) La régénération ou reconstitution des organes et de la forme générale du corps ;

c) Les stades ultimes de la division.

Il n'y a pas d'antagonisme entre le protoplasma et le noyau : des rapports réciproques qui existent entre ces deux éléments de la cellule résulte une action harmonique qui maintient leur vitalité et assure l'intégrité de leurs fonctions.

La méthode employée pour cette étude consiste « à séparer sur un organisme vivant un fragment plus ou moins considérable dans le but d'observer les phénomènes de survie présentés par cette portion isolée et devenue indépendante du tout dont elle faisait partie » ; cette opération est désignée par Balbiani sous le nom de *mérotomie*.

Cette méthode est la première en date ; elle sera tou-

jours la plus employée parce qu'elle est plus générale ; son emploi est également plus facile.

Il y a place cependant maintenant pour une seconde méthode quine comporte pas certaines causes d'erreur inhérentes à la première : mise à nu du protoplasma sur une grande surface, traumatisme violent provenant de la mérotomie. La pénétration même du parasite à l'intérieur du corps ne peut ni interrompre, ni même troubler un instant les fonctions de l'organisme ; la suppression du noyau se fait progressivement sans secousse ; lorsqu'elle est totale, on se trouve en présence d'un individu réduit à son protoplasma.

On peut objecter à cette méthode qu'il est difficile d'apprécier sur des organismes vivants le moment où le noyau a complètement disparu ; or, il résulte des expériences de Balbiani que la plus minime portion de substance nucléaire suffit pour entretenir la vie comme le fait le noyau tout entier. Cette objection peut être vraie en ce qui concerne les *Holospora* parasites du noyau des Ciliés ; mais, quant aux Nucléophages, le doute n'est point permis ; ces parasites absorbent intégralement la substance nucléaire. On peut s'en assurer facilement au moyen des réactifs ordinaires de la chromatine ; il n'en reste plus aucune trace même longtemps avant la sporulation ; les derniers vestiges du noyau disparaissent pendant que s'opère la multiplication des noyaux à l'intérieur des germes endogènes ; avec un peu d'habitude, rien n'est plus facile que de reconnaître ce moment sur les individus libres.

La méthode est donc susceptible d'une grande exactitude ; nous pensons qu'il faudra compter avec elle dans l'étude de la biologie cellulaire et en particulier dans l'examen approfondi des fonctions dévolues au protoplasma et au noyau ; nous la désignerons sous le nom de *nucléophagie*.

Après s'être procuré le parasite, on le communiquera aux diverses espèces d'amibes ou de Rhizopodes que l'on aura en cultures ; on pourra alors varier ses observations et ses expériences ; maintenant que l'attention est attirée sur ce point, d'autres parasites se rencontreront sans doute, remplissant les mêmes conditions et répondant aux mêmes besoins.

Après avoir longuement étudié le développement du parasite, nous avons essayé d'appliquer notre méthode à l'examen critique des résultats obtenus par la mérotomie ; malheureusement nos cultures touchaient à leur fin et nous avons dû nous borner seulement à des vérifications qui permettent néanmoins de prévoir tout le parti que l'on en peut tirer.

Un exemple montrera bien la chose :

Le Dantec, étudiant les phénomènes de la nutrition chez les Gromies, résume ainsi les conclusions de son travail (1) :

Quand on sépare d'une Gromie une masse plus ou moins grande de sarcode, cette masse isolée et dépourvue de noyau présente encore les propriétés caractéristiques du protoplasma de l'être nucléé, *pendant les premiers temps qui suivent l'opération*. Elle est capable d'englober des corps étrangers venus au contact d'elle, de s'additionner de substance sarcodique, de commencer à dissoudre certains corps solides.

Au bout de quelque temps de séjour dans l'eau, les additions précitées et les phénomènes d'osmose ayant lieu sans être suivis d'*assimilation*, la masse isolée devient différente du protoplasma d'une Gromie nucléée et perd ses propriétés dissolvantes. Sa réaction cesse d'être indépendante de celle du milieu.

L'influence du noyau sur les phénomènes *qui se passent dans l'intérieur du protoplasma* d'une Gromie entière se réduit à maintenir

(1) Le Dantec. *Etudes biologiques comparatives sur les Rhizopodes lobés et réticulés d'eau douce* (Bull. scientif. de la France et de la Belgique, t. XXVI, 1894, p. 87-88).

constant le milieu dans lequel ces phénomènes se produisent ; en d'autres termes, tous les phénomènes intraprotoplasmiques constatés chez une Gromie nucléée sembleraient devoir se produire dans le protoplasma séparé du noyau, si par un procédé quelconque on maintenait constante la composition de ce protoplasma : c'est-à-dire que le noyau de la Gromie n'a d'influence directe sur aucun phénomène se passant dans l'intérieur du protoplasma supposé de composition constante.

Mais lorsque Le Dantec a voulu rechercher si ces conclusions s'appliquaient aux amibes, il s'est trouvé en face d'une difficulté en apparence insoluble : les fragments énucléés d'amibe sont incapables d'ingérer aucun aliment solide ; il est impossible d'amener des corps étrangers et en particulier les grumeaux d'alizarine au sein du protoplasma ; c'est ce qu'avait déjà remarqué Bruno Hofer. On est réduit à faire ingérer l'alizarine à l'amibe entière avant la mérotomie : dans ces conditions, on constate que, dans la portion énucléée, la sécrétion d'acide se produit dans les vacuoles comme dans la partie renfermant le noyau ; ainsi que le fait remarquer Le Dantec, ce résultat est peu important, puisqu'il s'applique seulement aux premiers temps suivant la mérotomie. Les procédés d'étude de réaction intraprotoplasmique sont en défaut dans le cas actuel, car il n'y a plus ingestion chez le fragment énucléé. Avec notre nouvelle méthode, cette difficulté n'existe plus : l'amibe énucléée par le parasite continue non seulement à émettre des pseudopodes, mais encore elle ingère avec la plus grande facilité les substances solides ; c'est en nous servant d'une culture d'*Euglènes* que nous avons pu nous en assurer. Il nous suffira d'indiquer une de nos expériences.

Nous arrivons à isoler après quelques essais une amibe contaminée par le parasite ; nous nous assurons du degré de développement offert par ce dernier (fig. 6, C) ; le germe a dépassé presque du double le volume du noyau ; son

aspect ne peut laisser aucun doute : il n'existe plus depuis longtemps aucune *trace de la substance nucléaire*; la constitution du protoplasma n'offre rien d'anormal : la distinction en ectosarque et endosarque est bien marquée ;

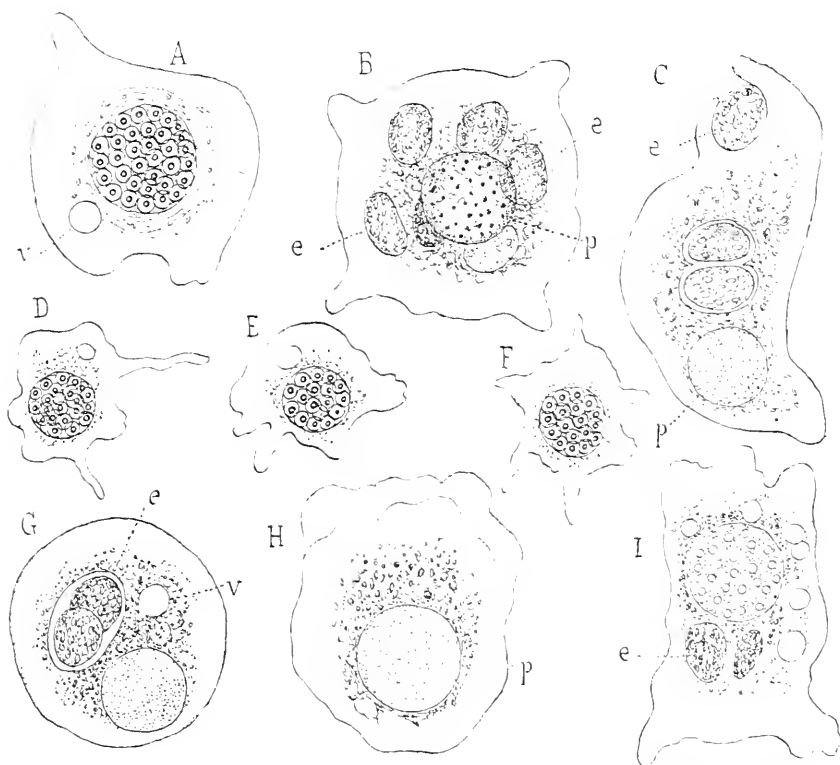


FIG. 6. — Amibes ayant servi à observer par nucléophagie les fonctions des divers éléments de la cellule.

les pseudopodes se forment comme chez les individus sains.

Nous plaçons cette amibe en observation dans une cellule humide de Van Tieghem, et nous lui fournissons quelques Euglènes; la première Euglène qui arrive au contact du protoplasma est saisie et ingérée en moins de deux minutes ; au point où elle touche l'amibe, l'ectosarque se

relève en forme de coupe autour de l'Euglène ; les bords de la cupule se rejoignent, et la vacuole digestive ainsi formée passe dans l'endoplasma avec son contenu ; dix minutes après, une seconde Euglène a le même sort ; la troisième n'est saisie qu'au bout d'une heure et demie (fig. 6, C) ; nous assistons à l'opération ; le corps de l'amibe à ce moment est allongé, et c'est à l'une des extrémités que s'effectue la préhension ; elle se fait avec une rapidité aussi grande que précédemment.

L'observation avait été commencée le matin vers 8 heures ; le soir, à 5 heures, nous constatons la présence de six Euglènes à l'intérieur du protoplasma de l'amibe (fig. 6, B) ; deux d'entre elles avaient pris une couleur rougeâtre faible, indice certain d'une digestion déjà avancée ; les autres avaient conservé leur couleur verte.

L'avantage de cette seconde méthode sur la mérotomie est ici manifeste :

Les amibes énucléées par mérotomie sont en effet incapables d'ingérer des particules solides ; il est impossible par suite d'y étudier les réactions intraprotoplasmiques de la digestion (Bruno Hofer, Le Dantec) ; le protoplasma se roule en boule, cesse d'émettre des pseudopodes et devient flottant.

Les amibes énucléées par un parasite continuent au contraire à ingérer normalement les aliments, des Euglènes par exemple ; il sera facile d'y étudier la digestion ; le protoplasma continue longtemps à former des pseudopodes.

Nous avons fait quelques remarques sur la manière dont se comportait le point oculiforme des Euglènes pendant l'ingestion ; on admet qu'il est formé normalement par deux substances différentes : une masse fondamentale plasmatique constituant un fin réseau, et un pigment

qui remplit toute cette masse de fines gouttelettes (1). J'ai cru reconnaître qu'au moment de l'ingestion, le point oculiforme, d'un beau rouge, perdait presque subitement son éclat, devenait de couleur pâle; il reprend sa couleur au bout de peu de temps, mais son aspect change bientôt; au début, à l'observation directe, sa structure semblait homogène; après quelque temps, on y voit de dix à quinze petites gouttelettes rouges distinctes; finalement, on n'en trouve plus que deux ou trois qui disparaissent elles-mêmes.

La vacuole contractile se rencontre encore sur des individus dans lesquels les germes endogènes sont arrivés au stade de sporulation; à ce stade, la formation de pseudopodes continue à se produire, mais souvent les déplacements sont insignifiants (fig. 6, D, E, F).

On rencontre, au stade de la sporulation, des amibes dans lesquelles la distinction en ectosarque et endoplasma n'existe plus, par suite de la disparition des granules; le protoplasma qui entoure le sporange du *Nucléophage* présente une structure fibrillaire très accentuée (fig. 6, A); sur l'un des côtés, on voit la vacuole contractile qui continue à fonctionner.

Dans d'autres amibes, avec des germes endogènes déjà très avancés, la structure du corps ne présente aucune modification apparente; il existe de nombreuses vacuoles dans un endoplasma granuleux; les pseudopodes se produisent régulièrement (fig. 6, I); quelquefois, les pseudopodes s'avancent en vagues hyalines, au lieu de former des lobes (fig. 6, H).

Il est prématuré de vouloir mettre en regard les résultats obtenus par cette méthode, avec ceux qu'a fournis

(1) G. Klebs. *Über die organisation einiger Flagellaten-Gruppen und ihre Beziehungen zu algen und Infusorien* (Untersuchungen ans dem botan. Institut zu Tübingen, p. 260).

la mérotomie chez les Protozoaires ; elle permet cependant de vérifier rapidement plusieurs des résultats obtenus et nous avons vu les avantages qu'elle présente dans des cas spéciaux. Ces observations ont été faites alors que nous poursuivions un but différent ; celui qui s'attachera spécialement à résoudre par ce moyen les questions de biologie cellulaire, ne pourra manquer de faire une riche moisson.

D

Ce paragraphe n'est pas actuellement susceptible de longs développements ; nous désirons seulement montrer que très probablement la pathologie générale aura sans doute à tirer profit de l'existence bien constatée de parasites nucléaires.

Si la maladie des Rhizopodes que nous venons d'étudier a pu passer si longtemps inaperçue, pourquoi n'en serait-il pas de même pour des maladies de même nature atteignant les organismes supérieurs et l'homme ? N'est-il point assez probable que, dans certaines hypertrophies des tissus, dans des cas de tumeurs par exemple, il existe des parasites exclusivement nucléaires ayant échappé jusqu'ici à l'observation ou bien ayant été interprétés comme de simples déformations du noyau ?

Je ne choisirai qu'un exemple pour appuyer cette idée : celui qui nous est fourni par le cancer. On sait combien les opinions varient sur la nature exacte du cancer ; la théorie parasitaire a de nombreux partisans, mais elle a aussi des adversaires non moins résolus.

On peut se rendre un compte exact de l'état de la question dans un mémoire très important publié l'année dernière par Fabre Domergue, qui est un adversaire convaincu de la théorie parasitaire, au moins telle qu'on la

formule aujourd'hui (1) ; ses conclusions que nous citerons en font foi :

« La théorie parasitaire du cancer, née des travaux de Pfeiffer, de Darier, de Wicham et d'Albarran, repose sur des observations qui n'ont entre elles aucun lien ni aucune analogie.

« Les formes décrites comme des Sporozoaires n'ont avec ces êtres que des ressemblances morphologiques et n'en possèdent pas les caractères.

« Toutes les pseudo-coccidies figurées jusqu'ici se rattachent par des gradations insensibles à la cellule néoplasique dont elles émanent par voie de dégénérescence ».

Mais si nous nous reportons à l'analyse si rigoureuse et si complète faite par ce savant des travaux de ses devanciers, nous ne pouvons nous empêcher de nous arrêter un instant sur les pseudo-coccidies du type de Thomas et de Nils-Sjöbring (2).

Ainsi Thomas parle de « parasites ayant 14 à 15 μ de diamètre et pouvant être mis en évidence par diverses méthodes de coloration ; on y trouve un protoplasma, un noyau et parfois aussi un nucléole ; il est à remarquer que ces formes se trouvent *isolées ou par groupes de 4-6 dans les noyaux épithéliaux* qui perdent presque complètement alors leur colorabilité ; les vésicules contenues dans le noyau cellulaire présentent parfois aussi des sphères chromatiques plus ou moins grosses très fortement colorables ».

On croirait absolument lire la description de nos Nucléophages des amibes.

D'après ce qui précède, on est tout au moins autorisé à dire qu'une étude comparative s'impose ; elle pourra s'ap-

(1) Fabre Domergue. *Discussion de l'origine coccidienne du cancer* (Annales de micrographie, t. VI, 1894).

(2) Fabre Domergue. *Loc. cit.*, p. 157-158.

puyer cette fois sur des données certaines, sur le développement maintenant bien connu d'un parasite nucléaire. Et il serait au moins intéressant de voir que des observations faites sur un organisme des plus inférieurs, une amibe, puisse contribuer à nous livrer le secret de la nature du cancer, cette maladie à juste titre si redoutée.

Si, d'un autre côté, nous nous reportons au mémoire de Soudakewitch (1), il semble que, dans le cancer, on puisse également trouver des parasites extranucléaires. Les relations qui s'établissent entre un parasite extranucléaire et la cellule qui le contient, sont beaucoup plus faciles à étudier dans un organisme unicellulaire que dans un tissu provenant d'un carcinome, par exemple ; aussi avons-nous cherché à bien établir dans la seconde partie de ce mémoire tous les stades d'un parasite extranucléaire de l'Euglène; les faits observés pourront sans doute être de quelque utilité, lorsqu'il s'agira de parasites analogues vivant au sein des tissus, soit dans les carcinomes, soit dans toute autre maladie.

(1) Soudakewitch. *Recherches sur le parasitisme intracellulaire et intranucléaire chez l'homme* (Ann. de l'Institut Pasteur, 1892).

DEUXIÈME PARTIE

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons fait connaître l'existence d'un parasite du noyau et nous avons cherché à montrer tout le parti que l'on pourra tirer de son étude. Les parasites du protoplasma sont beaucoup plus nombreux ; nous n'avons pas l'intention de les décrire ici, ni même d'en donner une simple énumération ; nous désirons compléter la description du genre *Sphærita* que nous avons créé il y a longtemps déjà ; nous indiquerons ensuite les caractères d'un nouveau parasite des Euglènes.

L'historique du genre *Sphærita* se trouve dans nos « Recherches sur les organismes inférieurs » (1) ; nous sommes en mesure aujourd'hui de fournir des détails beaucoup plus complets sur le *Sphærita endogena* des Euglènes ; une étude histologique minutieuse a permis de reconstituer tous les états de développement.

Les doubles colorations ont permis de constater que l'indépendance entre le parasite et le noyau de la cellule persiste pendant toute la vie ; elles ont permis également d'obtenir la structure histologique du parasite aux diverses phases de son existence.

(1) P.-A. Dangeard, *Recherches sur les organismes inférieurs* (Ann. des sc. nat., Bot., 7^e série, t. IV).

CHAPITRE PREMIER

Examinons une Euglène dans laquelle le parasite vient de pénétrer ; si elle a été traitée par la méthode des doubles colorations, le parasite se verra nettement au milieu du protoplasma ; il est situé en général dans la partie antérieure ou médiane du corps ; on le distingue sans aucune difficulté du noyau de la cellule ; non seulement la sensibilité aux réactifs colorants n'est pas la même, mais encore la structure est totalement différente (fig. 7, A).

Le noyau de l'Euglène *o* occupe le tiers postérieur du corps ; il est normalement sphérique, mais sa forme peut subir des déformations ; sa grosseur est sensiblement égale dans tous les individus ; le nucléole est unique, sa substance est dense, homogène et elle se colore d'une façon très intense ; son diamètre égale le $\frac{1}{3}$ ou le $\frac{1}{4}$ de celui du noyau ; autour du nucléole, dans le suc nucléaire, on trouve un grand nombre de granulations chromatiques espacées régulièrement ; dans certains noyaux, on voit distinctement que ces granulations sont orientées en file ; il existe donc dans le noyau de l'Euglène de véritables filaments chromatiques constitués par une substance fondamentale incolore, renfermant des granulations chromatiques, disposées en une seule file (1) ; cela ne se voit

(1) Cette structure des chromosomes n'a pas été vue par Jacob Keuten (*Die Kerntheilung von Euglena viridis*, Zeitsch. f. wis. zool., LX Band, 2^e Heft, 1895), car cet auteur écrit, p. 129 : « Eine differenzirung innerhalb der einzelnen chromosoms in chromatinreichere und armer Partien konnte ich nicht nachweisen. »

bien qu'aux stades qui précèdent la division, alors que la membrane nucléaire a disparu et que le contour du noyau est devenu irrégulier (fig. 7, N). Dans le noyau, à l'état de repos, ces granulations chromatiques paraissent simplement rayonner autour du nucléole; le suc nucléaire est homogène, mais non vacuolaire; sa densité paraît assez grande et il témoigne une certaine sensibilité aux réactifs; aussi, le contour externe de la membrane nucléaire se détache seul très nettement.

J'ai fréquemment observé dans le voisinage du noyau un corpuscule dont l'aspect rappelle un centrosome (fig. 7, A, c); mais ce corpuscule ne semble pas en remplir le rôle (1).

Le parasite qui vient de pénétrer à l'intérieur de l'Euglène, est beaucoup plus petit que le noyau de cette dernière; son protoplasma est dense et homogène; il prend dans les colorations au picro-carmin et au bleu d'aniline une teinte rougeâtre un peu plus prononcée que celle du milieu où il se trouve; on ne peut le confondre avec les chromatophores qui l'entourent, ceux-ci se colorant en bleu; il possède un noyau nucléolé, à structure vésiculaire; ce noyau présente en effet un gros nucléole, et l'intervalle entre ce dernier et la membrane nucléaire ne montre pas, à ce stade, de granulations chromatiques (fig. 7, A, B, C, D).

On voit qu'il est très facile de distinguer la présence d'un parasite même très jeune à l'intérieur d'une Euglène, puisque sa structure est très différente de celle du noyau et que, d'un autre côté, sous l'action des réactifs, il prend une couleur différente de celle des chromatophores.

Le parasite grossit tout d'abord sans montrer aucune

(1) Jacob Keuten. *Loc. cit.*

modification de forme ou de structure ; on doit noter toutefois les grandes dimensions du noyau et du nucléole au bout de quelque temps ; l'espace compris entre la membrane nucléaire et le nucléole reste vacuolaire (fig. 7, C, E) ; il arrive un moment où le nucléole est devenu très gros ; le contour du noyau peut à ce moment devenir indécis, il est probable que cet état précède de très peu la division du noyau (fig. 7, C).

A partir de ce moment, nous observons dans le développement de ces germes endogènes deux manières d'être très différentes : peut-être correspondent-elles à deux parasites distincts.

Les premiers stades que nous venons de décrire se ressemblent ; tout au plus pourrait-on dire, d'après nos dessins, que les plus grosses vésicules, celles dans lesquelles le noyau atteint des dimensions énormes, appartiennent au second parasite ; dans les germes du premier, la division s'opérerait plus tôt.

Notre perplexité a été grande : nous ne nous sommes décidé à séparer ces germes endogènes dans la description, que parce qu'il nous était difficile de faire entrer dans un même cycle les divers aspects et stades que nous avons rencontrés.

Examinons d'abord ceux que l'on peut attribuer sans hésitation au *Sphaerita endogena*.

A

On peut rencontrer à la fois dans une même Euglène plusieurs parasites : il y en a quelquefois jusqu'à six ou sept (fig. 7, D).

Nous n'avons pas réussi à observer la première division du noyau ; mais nous avons rencontré des germes

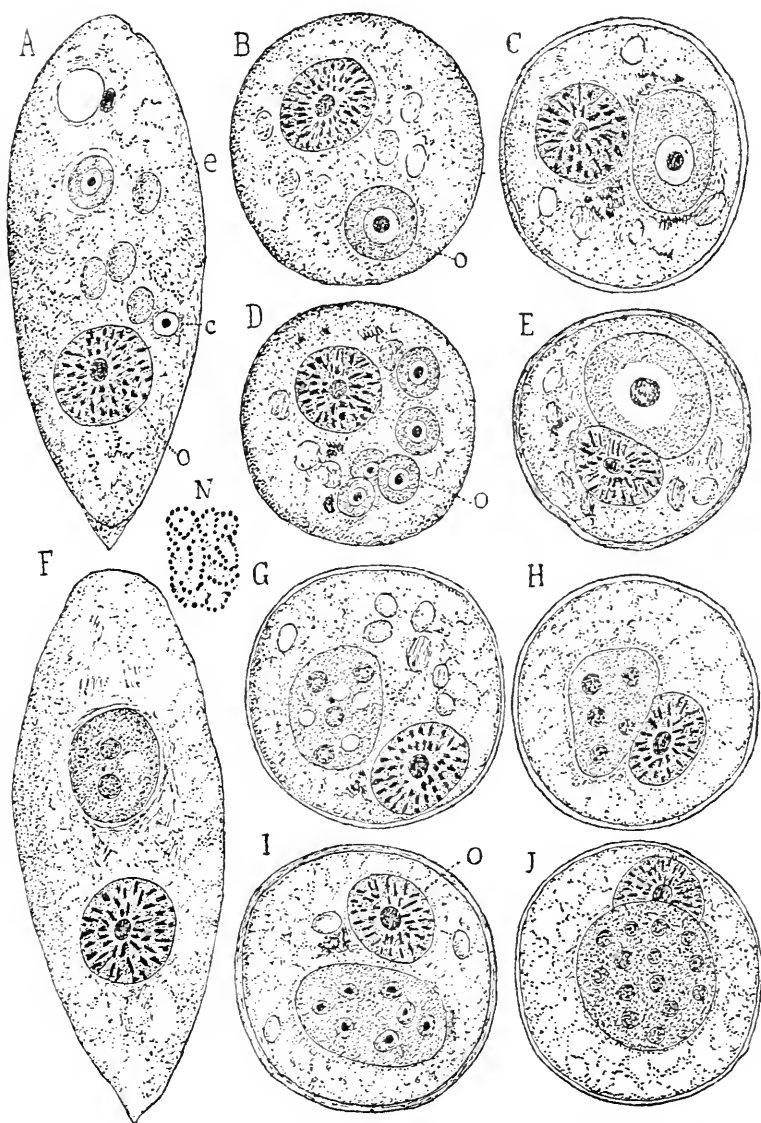


FIG. 7. — Divers stades du développement du *Sphaerita endogena* à l'intérieur des Euglènes.

qui n'en possédaient encore que deux ou quatre (fig. 7, F, G); leur taille est redevenue beaucoup plus faible; elle est à peu près égale à celle qu'avait le noyau unique dans le parasite très jeune; elle n'offrira plus que des variations de minime importance dans le reste du développement. Ces noyaux sont encore nucléolés, mais nous avons remarqué qu'ils possédaient en outre des granulations chromatiques dans le suc nucléaire; il est bon d'ajouter qu'elles ne sont visibles que dans les bonnes préparations (fig. 7, H).

La surface du parasite est lisse; elle est séparée du protoplasma de l'Euglène par une zone mince incolore; ce résultat est dû certainement à une contraction un peu différente des deux plasmas sous l'influence des réactifs fixateurs; rien n'autorise à y voir l'équivalent d'une vacuole dans laquelle serait logé le parasite; à l'état vivant, cette zone n'existe pas, il y a contact entre les parties en présence.

Outre les noyaux, le protoplasma du sporange en formation renferme quelques vacuoles (fig. 7, G).

Ces sporanges augmentent sensiblement de volume tout en conservant une forme sphérique ou elliptique; ils arrivent souvent au contact du noyau et le resserrent entre leur propre surface et la membrane de l'Euglène, de sorte qu'il prend une forme en biscuit. Pendant ce temps, les éléments nucléaires du sporange se multiplient au milieu d'un protoplasma dense, homogène, dépourvu de vacuoles; ils s'y montrent sous l'aspect de petites sphérules renfermant des granulations chromatiques (fig. 7, I, J.)

Il n'est pas facile d'observer des noyaux en division; nous interprétons comme tels ceux qui sont représentés dans la fig. 8, A; on y voit deux rangées parallèles de granulations chromatiques; les nucléoles ne sont pas visibles et chaque rangée comprend trois granulations au

moins le plus souvent ; les autres stades nous ont échappé.

Lorsque le sporange a atteint sa grosseur définitive,

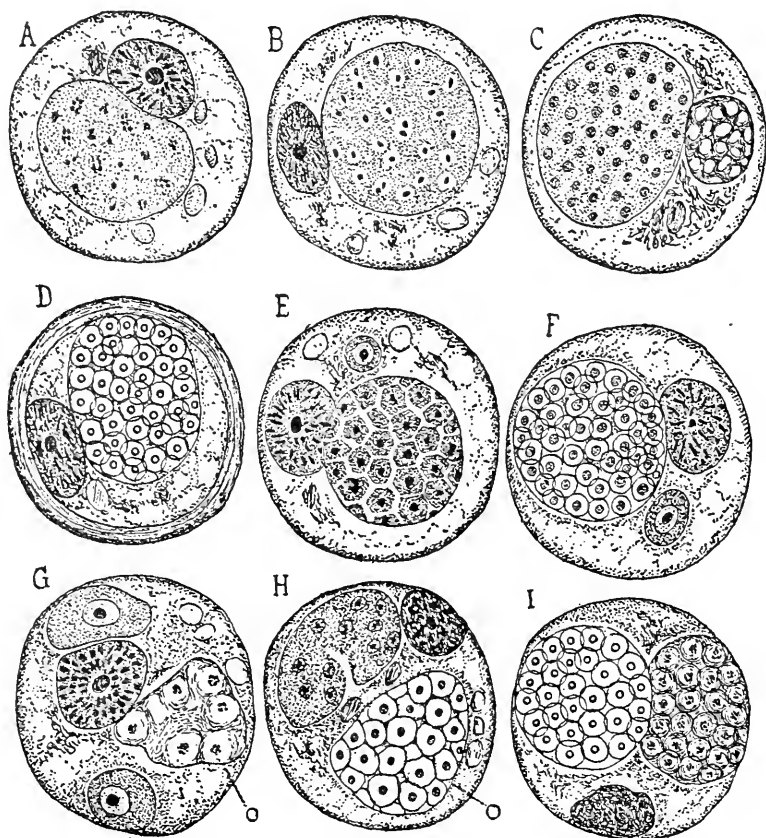


FIG. 8 — Sporangies du *Sphaerita endogena*.

après multiplication des noyaux (fig. 8, B, C.), le protoplasma se fractionne en îlots polyédriques dont chacun comprend un noyau ; le fractionnement paraît se faire simultanément dans toute la masse (fig. 8, E) , les aspects qui pourraient faire pencher en faveur d'une opinion contraire

seront figurés plus tard. Autour de chaque noyau, le protoplasma, d'une homogénéité parfaite, s'arrondit en sphère; chacune de ces petites sphères constitue une zoospore qui se recouvre d'une mince membrane (fig. 8, D, F); l'enveloppe du sporange est elle-même très délicate; au centre de chacune des zoospores se trouve un noyau sphérique qui montre, lorsque les conditions de l'observation sont favorables, cinq à sept granulations chromatiques; il possède en outre un nucléole.

Pendant que ces changements ont lieu dans le sporange, d'autres se produisent dans le corps de l'Euglène; son noyau subit une dégénérescence plus ou moins apparente; à la limite, sa texture devient spongieuse (fig. 8, C) et toute trace de nucléole a disparu. Mais fréquemment, l'altération ne va pas aussi loin; pendant assez longtemps, le noyau et le parasite font bon ménage au sein du protoplasma de l'Euglène; c'est beaucoup plus tard seulement que les granulations chromatiques se confondent en une masse rougeâtre, flétrie, et que le nucléole disparaît plus ou moins (fig. 8, H, I).

On sait que les Euglènes, tout en conservant leur activité ordinaire, peuvent amener les sporanges du parasite à maturité; les chromatophores sont peu à peu détruits; le protoplasma se raréfie et à la fin, brusquement l'Euglène éclate, mettant en liberté les zoospores du *Sphæritia*. Il ne faudrait pas croire que nécessairement, au moment où se produit cette sortie, l'Euglène soit arrivée à la période ultime d'inanition sous l'influence du parasite; dans beaucoup de cas au moins, elle serait capable de revenir à son état normal, si par un moyen ou par un autre, il était possible de la débarrasser de son parasite; ce n'est pas par épuisement que le parasite arrive à détruire l'Euglène, c'est par l'effet mécanique qui amène une déchirure de la membrane. Cela est si vrai que l'Euglène attaquée par un parasite peut prolonger indéfi-

niment son existence ; il lui suffit de s'enkyster ; elle s'arrête, s'arrondit, s'entoure d'une membrane très épaisse ; le parasite va bien réussir à constituer un sporange et des zoospores (fig. 8, D), mais celles-ci ne seront point mises en liberté, car la membrane du kyste résiste à la tension interne. Aussi l'Euglène continue-t-elle à vivre, et il serait vraiment curieux de savoir quelle est l'issue de cette lutte ; je serais porté à croire que la vitalité des zoospores de *Sphærita* ne peut résister à un emprisonnement qui peut se prolonger pendant des jours et des semaines.

Ces faits nous montrent quelle force de résistance possède le protoplasma d'une cellule dans les conditions que nous venons de constater, c'est-à-dire avec un noyau qui n'est pas atteint directement par un parasite.

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons vu le parti que l'on pouvait tirer de l'ablation artificielle du noyau par un parasite ; il n'est pas téméraire d'espérer que l'étude des parasites du protoplasma, et en particulier de celui-ci, nous fournira également des renseignements importants sur la vie de la cellule.

Nous avons vu qu'il pouvait exister dans la même Euglène plusieurs parasites à la fois ; ils sont fréquemment à des degrés de développement très différents (fig. 8, G, H) ; ainsi certains sporanges ont déjà formé leurs zoospores, alors que d'autres germes en sont encore à la période où il n'existe qu'un noyau ; d'autres fois, on rencontre dans le corps de l'Euglène deux sporanges qui ont réussi à former leurs zoospores (fig. 8, I).

Ces zoospores ont bien deux flagellums, ainsi que nous l'avons fait connaître il y a quelques années ; le cil antérieur est court et flexueux, le cil postérieur est long et droit (1).

(1) P.-A. Dangeard. *Mémoire sur les Chytridinées* (Le Botaniste, 4^{re} série, p. 49).

Les kystes ne se sont pas montrés dans nos cultures ; on sait qu'ils sont de deux sortes : les uns ont une membrane épineuse, les autres ont une paroi lisse ; ils germent après un temps assez long en fournissant un grand nombre de zoospores ; celles-ci ont la même structure que les zoospores formées dans les sporanges (1).

Ceux qui rencontreront ces kystes devront porter spécialement leur attention sur les premiers états du développement. Il est certain que ces kystes, d'assez bonne heure, ne renferment qu'un noyau qui fournira en se divisant les noyaux des zoospores ; mais ce noyau unique ne provient-il point de deux noyaux fusionnés après une conjugaison de gamètes ? Nous serions porté à le croire, maintenant que des travaux récents nous ont permis de mieux comprendre la reproduction sexuelle des champignons ; cette conjugaison de gamètes n'est pas improbable, car nous avons fait autrefois l'observation que « les zoospores du *Sphærita* sont parfois soudées les unes aux autres, simulant une conjugaison de gamètes (2) » ; il est vrai que nous pensions alors qu'elle ne se produisait pas réellement ; si elle a lieu, les kystes devront être regardés comme des œufs provenant d'une reproduction sexuelle bien caractérisée.

Nous allons maintenant décrire différents aspects qu'il est difficile de faire entrer dans le développement du *Sphærita endogena* ; s'ils appartiennent réellement à un second parasite, nous proposons de le désigner sous le nom de *Pseudosphærita Euglenæ*.

(1) P.-A. Dangeard. *Loc. cit.*

(2) *Loc. cit.*, p. 49.

B

Les premiers stades n'ont pu être distingués de ceux du précédent ; tout au plus, pourrait-on séparer certaines formes plus volumineuses dans lesquelles le contour se montrait parfois assez irrégulier (fig. 9, B) ; il est possible d'ailleurs que ce résultat soit dû à un accident de préparation.

Nous appelons particulièrement l'attention sur la fig. 9, D, E, F, G ; en E, le sporange est elliptique, assez gros ; il ne renferme cependant qu'un nombre restreint d'éléments nucléaires ; des travées claires divisent le protoplasma en larges ilots au centre desquels on ne voit qu'un noyau ; en F, chacun des ilots renferme plusieurs noyaux.

Nous ignorons comment ces stades se rattachent à un autre qui paraît plus jeune et est représenté en D.

Plus tard, à mesure que le nombre des noyaux augmente, la fragmentation du protoplasma est moins régulière ; le contour du sporange n'offre point cette régularité que nous avons constatée dans les *Sphærita*. Certains aspects tendraient à faire croire que le parasite peut modifier sa forme jusqu'au stade de la sporulation ; à côté de sporanges à peu près sphériques, nous en trouvons d'autres en effet qui ont la forme d'un gros cordon replié sur lui-même (fig. 9, C, I).

On ne remarque à ce moment dans le protoplasma aucune trace de la fragmentation primitive ; il existe par contre un très grand nombre de noyaux rapprochés les uns des autres.

La formation des zoospores semble se faire exactement comme chez les *Sphærita* : comme toutes ces zoospores se

trouvent mélangées dans les cultures, il nous a été impossible de les distinguer les unes des autres.

En résumé, on se trouve en présence de deux alternatives.

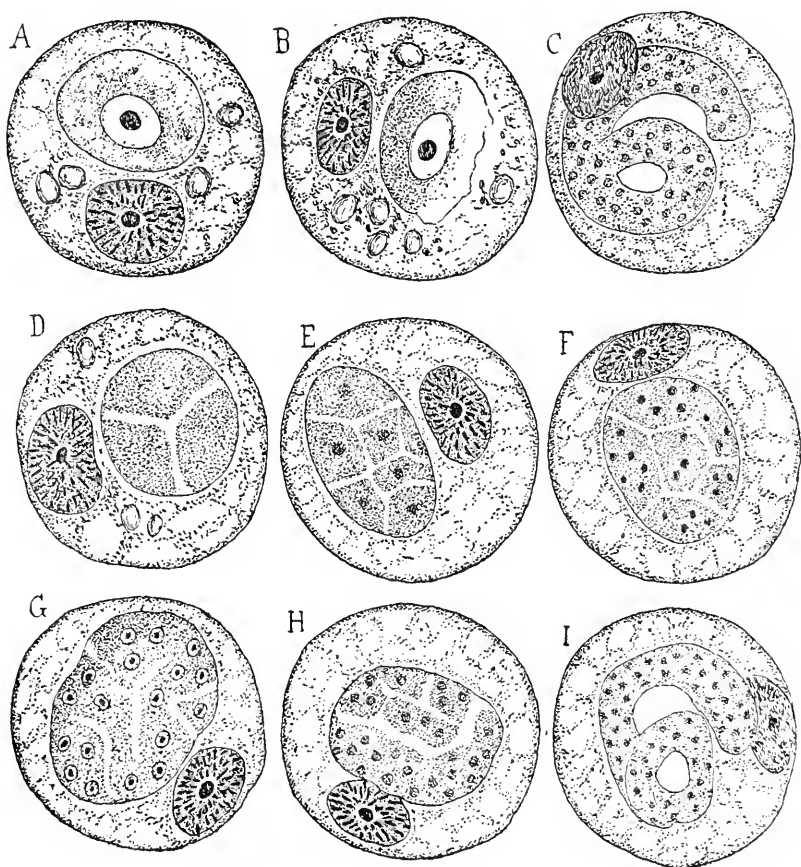


FIG. 9. — Divers stades, d'attribution douteuse, d'un parasite de l'*Euglena viridis*.

1° Il n'existe qu'un seul et même parasite à l'intérieur des Euglènes ; pendant la formation du sporange, on peut observer une fragmentation du protoplasma en îlots qui ne correspond nullement à la distribution des noyaux dans cet organe ; cette fragmentation d'une part n'est pas

constante, et d'autre part, lorsqu'elle existe, elle ne se produit pas au même âge chez tous les individus ; de plus, la forme du sporange présente tous les intermédiaires entre la forme sphérique qui est la plus constante et celle d'un cordon replié sur lui-même.

Cette fragmentation rappellerait celle que l'on a signalée dans le sporange des *Saprolegnia* (1), tout en étant beaucoup plus irrégulière ; dans le sporange des *Saprolegnia*, en effet, le nombre des noyaux ne change pas ; ici, les noyaux se multiplient incontestablement pendant cette période.

2° Ou bien, il existe deux parasites distincts ayant chacun le développement particulier qui vient d'être indiqué ; il n'en reste pas moins, à l'actif du second parasite, des particularités de structure dont il est difficile de se rendre un compte exact.

Il y aura lieu de rechercher maintenant si les germes endogènes que nous avons rencontrés autrefois chez les *Nuclearia* et les *Heterophrys* sont des parasites nucléaires ou des parasites du protoplasma ; ce dernier cas est le plus probable.

(1) Consulter : P.-A. Dangeard. *Recherches histologiques sur les champignons* (Le Botaniste, 2^e série, p. 102).

CHAPITRE II

Le parasite dont il nous reste à parler s'est montré, alors que nos cultures d'Euglènes touchaient à leur fin : il se présentait sous la forme d'une sphère à l'intérieur de la cellule hypertrophiée ; en dehors du parasite se voyaient des grains de paramylon paraissant intacts ; à côté, des pelotes digestives assez grosses, constituées par une substance brune renfermant de nombreuses granulations de couleur plus foncée.

N'ayant pas observé la période de nutrition de ce parasite, nous ignorons comment se forment ces pelotes, mais elles sont sûrement un produit direct de la digestion (fig. 10, o).

Dans les sphères parasites, on voit, lorsque la formation des zoospores est sur le point d'avoir lieu, des amas de granules jaunes espacés régulièrement dans le protoplasma (fig 10, A) ; dans chacun de ces amas, les granules s'agglomèrent bientôt en une sphérule de même couleur (fig. 10, B).

Pour la formation des zoospores, le protoplasma fait hernie à la surface de l'Euglène ; l'ampoule grossit de plus en plus et elle atteint finalement un volume égal ou supérieur à celui de l'ampoule interne (fig. 10, C) ; puis, brusquement, le protoplasma se sépare en autant de zoospores qu'il y a de globules colorés ; la sporulation se produit à la fois dans l'ampoule interne et dans l'ampoule externe (fig. 10, D) ; la mince paroi de cette dernière se dissout dans l'eau et les zoospores s'échappent vivement de tous côtés. Après leur sortie, on voit qu'il ne reste plus que l'ampoule interne ; elle offre une ouverture circulaire, à bords légè-

rement relevés, par laquelle le protoplasma du parasite a fait hernie au dehors (fig. 10, E).

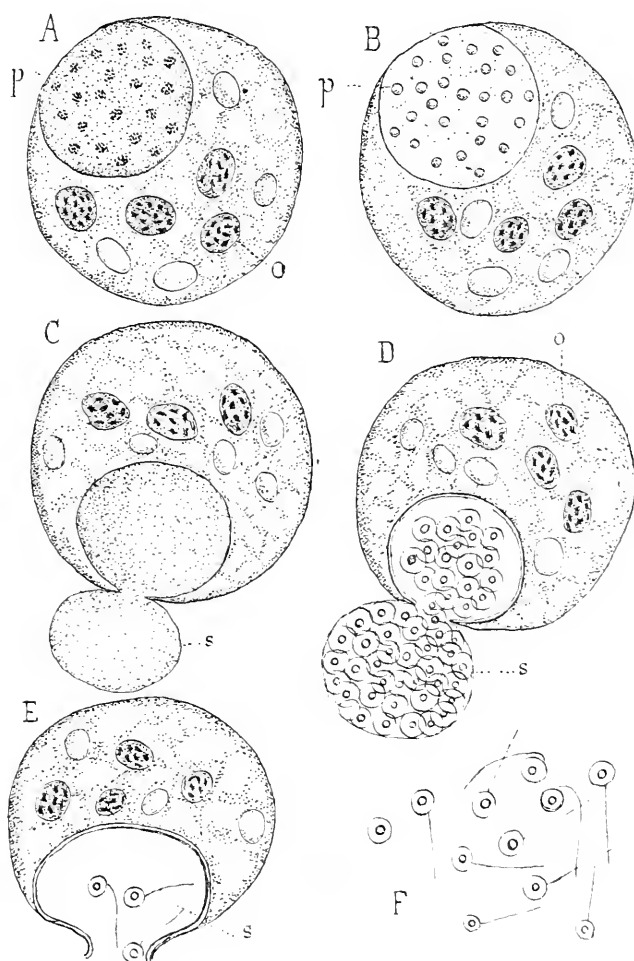


FIG. 10. — Développement de l'*Olpidium Euglenæ* sp. nov.

Les zoospores sont sphériques ; elles ont un globule coloré en jaune orangé, un long flagellum, trainé à l'arrière ; leur mouvement est vif et saccadé comme celui de beaucoup d'autres Chytridinées (fig. 10, F).

Cette espèce porte à quatre au moins le nombre des Chytridinées qui attaquent les Euglènes (*Polyphagus Euglenæ* Nowakowski, *Chytridium Euglenæ* Dang. *Sphærita endogena* Dang.) ; celle que nous venons de décrire doit être la plus rare, puisque, dans les nombreuses recherches que nous poursuivons depuis dix ans, c'est la première fois que nous la rencontrons.

Il nous reste à indiquer sa place dans la classification ; nous la considérons comme devant prendre place dans le genre *Olpiaium* à côté de l'*Olpidium gregarium* Now. qui habite les œufs de Rotateur.

Nous proposons pour cette espèce le nom d'*Olpidium Euglenæ*.

CONCLUSION

Les résultats de ce Mémoire ressortent suffisamment de l'ordre adopté dans l'exposition des faits.

1^{re} PARTIE. — CHAPITRE I. Description du nouveau genre *Nucleophaga*, vivant à l'intérieur du noyau des amibes.

CHAPITRE II. A. L'existence de ce parasite permet de faire table rase des diverses théories émises au sujet de la reproduction sexuelle des Rhizopodes.

B. Elle simplifie l'étude du noyau dans ce groupe en faisant disparaître toutes les anomalies qui concernaient soit sa structure, soit son mode de division.

C. La manière dont se comporte le parasite dans le noyau, permet la création d'une nouvelle méthode pour la recherche du rôle que jouent dans la cellule les divers éléments qui la composent ; on pourra désormais se servir concurremment de la *mérotomie* (Balbiani) et de la *nucléophagie*.

D. Application de la connaissance des Nucléophages à l'étude des maladies et en particulier des tumeurs et des carcinomes.

2^e PARTIE. — CHAPITRE I. Description du genre *Sphærita*.

A. Développement normal.

B. Divers stades d'attribution douteuse.

CHAPITRE II. Description d'un nouveau parasite des Euglènes

CONSIDÉRATIONS

SUR LES

PHÉNOMÈNES DE REPRODUCTION

CHEZ LES PHYCOMYCÈTES

(SIPHOMYCÈTES)

Par **P.-A. DANGEARD**

Sous le nom de Siphomycètes, ou Phycomycètes, nous comprenons avec le Dr A. Fischer (1) les champignons à thalle non cloisonné : cette structure les place dans des conditions particulières au point de vue de la reproduction sexuelle. En effet, comme nous l'avons montré précédemment, les oosporanges et les anthéridies en présence renferment de nombreux éléments nucléaires dans les trois ordres : Chytridiacées, Saprolegniacées et Mucoracées (2).

En ce qui concerne la fécondation elle-même, nous disions récemment qu'actuellement (3) « nous ne pouvons qu'entrevoir une partie du phénomène, à savoir une

(1) Dr L. Rabenhorst's. *Kryptogamen-Flora*. (Die Pilze, IV Abt., Phycomycetes).

(2) P.-A. Dangeard. *Recherches histologiques sur les champignons* (Le Botaniste, 2^e série, 1890).

(3) P.-A. Dangeard. *Publications en botanique* (Le Botaniste, 4^e série, 3^e fascicule, janvier 1895, p. 113).

destruction de la plus grande partie des noyaux des gamètes et la *persistance* de quelques-uns, réduits à deux peut-être ♀+♂ qui s'uniraient en un seul noyau sexuel ».

Nous avons la satisfaction de constater, à la lecture d'un mémoire de Trow (1) que cette formule peut être considérée comme définitive chez les Saprologniées.

Nous nous permettons, — l'auteur ne l'ayant fait que très incomplètement — de rechercher la part de chacun dans ce résultat.

Le travail le premier en date est celui d'Hartog (2).

D'après lui, « le noyau de ces plantes est vésiculaire ; il contient un petit amas central de nucléine, entouré d'une couche d'hyaloplasma peu réfringent. »

La division du noyau peut s'effectuer de deux manières : « les noyaux se divisent par étranglement ; mais on peut y constater aussi des phénomènes de karyokinèse. La division du noyau est précédée par de grands changements dans l'amas de nucléine. Celui-ci devient fort irrégulier et finit par se partager en deux moitiés, ayant la forme de croissants émoussés et dos à dos, avec une structure nettement fibrillaire. Ces croissants s'écartent et s'arrondissent ; la paroi nucléaire s'infléchit alors pour les séparer et constituer ainsi les deux noyaux filles. »

Au sujet de la façon dont se comportent les noyaux dans les organes sexuels, ce savant écrit : « On aperçoit, dans le protoplasma vivant de l'oosporange jeune, des vacuoles lenticulaires qui ont donné lieu à bien des interprétations. De Bary a fort justement insisté sur le fait que ces vacuoles se déplacent, se rencontrent et se fondent ensemble. J'ai constaté que ces vacuoles sont, en réalité, des noyaux qui se présentent à tous les stades de conjugaison et contiennent, par suite, de deux à quatre amas de nucléine. Plus tard, ces amas se résolvent en

(1) A.-H. Trow. *The Karyology of Saprolegnia* (Ann. of Botany, vol. IX, n° xxxvi, décembre 1895).

(2) Marcus Hartog. *Recherches sur la structure des Saprologniées* (Comptes rendus, Académie des sciences, t. CVIII, 1889, p. 687).

granulations fines, pour se réunir enfin en un seul amas sphérique. Ces noyaux composés se rassemblent par groupes dans l'intérieur des oosphères au premier état ; dans l'oospore mûre, les noyaux se fondent en un seul, comme l'ont vu MM. Schmitz et Strasburger. »

Avec cette dernière description, nous sommes loin de la formule de la sexualité des Siphomycètes, indiquée plus haut.

Nos recherches qui ont suivi de près celles d'Hartog les rectifient sur plusieurs points (1).

1° Nous considérons le noyau des Sapro-légniées comme étant formé par une membrane nucléaire entourant un hyaloplasme au centre duquel se trouve un nucléole.

2° Nous démontrons que les vacuoles qui se voient dans l'oosporange jeune ne sont point des noyaux à tous les stades de conjugaison, ainsi que l'admettait Hartog. Non seulement les noyaux de l'oosporange ne se fusionnent pas, mais ils *disparaissent* au contraire, car, « si l'on examine les oogones au stade représenté (fig. 14), on voit que les noyaux deviennent de plus en plus indistincts ; on finit par ne plus voir autre chose que de fins granules de chromatine, disséminés dans le protoplasma ; la substance des noyaux semble s'être éparpillée (2). »

3° Les anthéridies sont, comme les oogones, plurinucléées (3).

4° Nous signalons, à l'intérieur des oospores, l'existence de corpuscules de glycogène ; ces formations spéciales, si curieuses, et dont le rôle n'a pas été encore élucidé, étaient restées jusque-là inaperçues.

5° Enfin, nous établissons qu'à maturité, au moment de la germination, les oospores renferment plusieurs noyaux dans la couche de protoplasma qui s'étend entre le globule oléagineux central et la membrane ; lorsque nous parlons

(1) P.-A. Dangeard, *Recherches histologiques sur les champignons*. Loc. cit., 1890.

(2) P.-A. Dangeard. Loc. cit., p. 107.

(3) Loc. cit., p. 112.

d'oospores arrivées à maturité, il s'agit dans l'espèce d'oospores prêtes de germer, comme celles que nous avons à notre disposition. Quant à l'origine de ces noyaux, nous restons sur la réserve (1): « Proviennent-ils de la *division d'un seul noyau*, ou sont-ils d'anciens noyaux qui, un moment masqués dans le protoplasme, reprennent ensuite leurs caractères ? Il nous est impossible de le dire pour l'instant. »

On voit qu'autant les observations d'Hartog nous éloignaient de la formule réelle de la sexualité chez les Siphomycètes, autant les nôtres s'en rapprochaient dès ce moment.

Si nous restions dans le doute entre deux hypothèses, c'est que le noyau unique qui persiste à l'intérieur des oospores, alors que les autres se détruisent, perd souvent une partie de ses caractères ; comme les auteurs qui vont suivre, nous avons vu et dessiné ce corpuscule (fig. 15 et 18, pl. V); nous écrivions même : « Ce petit amas de chromatine représente peut-être un noyau, mais je ne vois rien là de certain (2). »

Hartog, s'occupant de la reproduction en général (3), revient sur la question des Saprologniées ; il distingue, dans ce nouveau travail, les véritables vacuoles des vacuoles nucléaires ; mais il continue à admettre une fusion des noyaux de l'oogone. « Pendant la fusion des noyaux, l'amas de chromatine reste longtemps distinct : il devient de plus en plus petit et se colore moins rapidement par les réactifs ; la membrane nucléaire, à ce moment, cesse de se colorer, de telle sorte que les noyaux qui se fusionnent ressemblent au milieu du cytoplasme à des vacuoles contenant un nombre variable de granules chromatiques. »

« La fusion est complète dans les *Saprolegnia* dès l'o-

(1) P.-A. Dangeard. *Loc. cit.*, p. 110.

(2) *Loc. cit.*, p. 100.

(3) Marcus Hartog. *Some problems of reproduction* (Quarterly journal of microsc. science, v. XXIII, p. 1-79, 1892).

rigine de la formation de l'oospore : elle n'a lieu qu'après la production de la membrane dans les *Achlya*, car les jeunes oospores sont fréquemment binucléées (1) ».

Les anthéridies sont également multinucléées ; elles envoient des tubes dans la cavité de l'oogone, et ces tubes renferment de petits noyaux qui proviennent par division de ceux de l'anthéridie (2).

Humphrey, qui a fourni une importante contribution à l'étude des Saprolegniées (3) considère le corpuscule, central du noyau comme un chromosome ; il reconnaît l'exactitude de nos observations en ce qui concerne l'indépendance des vacuoles et des éléments nucléaires ; mais il tombe dans la même erreur qu'Hartog sur le point principal, la fusion des noyaux dans l'oosporange, car il dit (4) : « La réduction du nombre des noyaux est certainement (plainly) due à une fusion de ces noyaux, probablement plusieurs fois répétée » ; mais il ne peut décider si tous les noyaux primitifs sont compris dans cette fusion ou bien si quelques-uns d'entre eux disparaissent par dégénérescence.

Humphrey constate que les anthéridies renferment aussi plusieurs noyaux ; mais il ne voit rien qui autorise à les considérer, avec Hartog, comme provenant de la division des noyaux de l'anthéridie.

La nature nucléaire du corpuscule central des oospores n'est point douteuse pour lui : il indique la présence de un ou deux noyaux dans l'*Achlya Americana*.

Nous arrivons au dernier mémoire, celui de Trow (5) : l'exactitude de notre formule de la sexualité chez les Siphomycètes ne pourra plus guère être contestée, du

(1) M. Hartog. *Loc. cit.*, p. 23.

(2) *Loc. cit.*, p. 24.

(3) J.-E. Humphrey. *The Saprolegniaceae of the united States*, Nov. 18, 1892.

(4) J. E. Humphrey. *Loc. cit.*, p. 92-93.

(5) A.-H. Trow. *The Karyology of Saprolegnia* (Ann. of Botany, v. IX, n° xxxvi, Décembre 1895).

moins chez les Saprologniées ; nos recherches, on l'a vu, nous avaient conduit tout près du but : celles d'Hartog et d'Humphrey nous en éloignaient.

Nous dirons d'abord que Trow met hors de doute l'exactitude d'une dégénérescence des noyaux de l'oogone : il n'en subsiste qu'un par oospore.

Ce point important acquis, nous devons examiner comment se produit cette dégénérescence des noyaux ; si nous sommes d'accord sur le fait même avec Trow, nous différerons d'avis sur les détails du phénomène. Ce dernier admet, en effet, que dans l'oogone et dans l'anthéridie, chaque noyau subit une division réductionnelle par un mode indirect, en vertu duquel le chromosome entier se trouve réduit de moitié ; autrement dit, on se trouve en présence de demi-noyaux ; il y a ensuite disparition des noyaux en excès.

Nous pensons que cette interprétation est inexacte : elle a sa source dans la façon de comprendre la structure du noyau ; en effet, Trow considère comme un chromosome ce qui n'est pour nous qu'un simple nucléole ; dès lors tout s'explique.

Cet observateur admet que la membrane du noyau se rompt pendant cette division, que la *portion colorable du hyaloplasme nucléaire se disperse dans le protoplasma*, retenant encore quelque temps ses affinités pour les colorants ; c'est alors que le chromosome se divise en deux parties souvent inégales qui finissent par disparaître (1). Il nous semble évident que cette prétendue division n'est qu'une simple destruction du noyau : ce dernier perd sa membrane, laisse échapper dans le protoplasma environnant son contenu, c'est-à-dire, d'une part, le suc nucléaire et sa partie colorable, et d'autre part son nucléole qui peut préalablement se fragmenter, avant de disparaître. La manière dont le hyaloplasme nucléaire *colorable* se disperse dans le protoplasma n'est guère en rapport

(1) Trow. *Loc. cit.*, p. 627.

avec ce qui a lieu dans une division ordinaire : elle correspond bien plutôt à une simple destruction des noyaux.

Quoi qu'il en soit, il y a bien *disparition* de la plupart des noyaux, ce qui est l'important.

Les oospores peuvent se développer parthénogénétiquement, et alors on n'y trouve qu'un noyau (*Saprolegnia Thureti*) : lorsqu'il existe des anthéridies, la fécondation doit avoir lieu, car l'oospore renferme alors fréquemment deux noyaux : il est presque certain, bien que l'auteur n'ait pu suivre les détails, que le second noyau vient d'un tube anthéridien ; le groupe des Saprolegniées ne serait donc pas apogame ; les deux noyaux se mélangeraient assez tard en un seul noyau sexuel. La fécondation se produirait normalement pour toutes les oospores (*Saprolegnia dioica*), ou seulement pour quelques-unes (*Saprolegnia mixta*, *Achlya americana*).

Ainsi se trouve réalisée l'idée que nous avons émise au sujet de la reproduction sexuelle chez les Siphomycètes dans le cas particulier des Saprolegniées.

Nous pouvons dire que les observations de Wager (1) et les nôtres (2) permettent de penser maintenant que la fécondation se produit de la même manière dans les Peronosporées et les Pythiées.

La question est moins avancée en ce qui concerne les Mucorinées : nous avons, à la vérité, signalé, en collaboration avec un élève de notre Laboratoire, la présence de nombreux noyaux dans les gamètes en présence ; d'abord semblables, ils se séparent ensuite en deux catégories, les uns plus petits, les autres beaucoup plus gros (3) ; mais nous déclinons toute responsabilité pour le reste.

On ne saurait en effet accorder aucune créance à la

(1) Wager. *Observations on the structure of the nuclei in Peronospora parasitica* (Ann. of Botany, vol. IV, n° XIII, p. 127).

(2) P.-A. Dangeard. *Loc. cit.*

(3) P.-A. Dangeard et Maurice Léger. *La reproduction sexuelle des Mucorinées* (Comptes rendus de l'Académie des sciences, 5 mars 1894).

description trop de fantaisie de deux sphères embryonnaires qui existeraient normalement dans toutes les zygo-spores (1) : la question reste entière là où nous l'avons laissée.

S'il est interdit en science de faire passer des vues de l'esprit plus ou moins vraisemblables pour des faits d'observation réelle, il peut être très utile de chercher, sous forme d'hypothèses, à devancer, à prévoir un résultat.

Deux hypothèses également vraisemblables peuvent être faites au sujet de la fécondation chez les Mucorinées.

1° Dans la zygospore, tous les noyaux se détruisent sauf deux qui s'unissent en un seul noyau sexuel, duquel proviennent à germination tous les noyaux du filament germinatif.

2° La zygospore peut être comparée à un oogone comme celui des *Saprolegnia* et des *Achlya* : elle renferme un certain nombre d'unités à féconder, autrement dit un certain nombre d'oosphères non individualisées : à chacune de ces oosphères correspondrait une fusion de deux noyaux sexuels : est-ce là l'explication des noyaux plus gros et des noyaux plus petits qui existent dans la zygospore ? Nous l'ignorons ; mais cette dernière structure rendrait bien compte de la germination en nombreux tubes sporangifères fertiles comme dans le *Mortierella Rostafinskii*. Dans l'un et l'autre cas, on rentre dans la loi générale.

(1) Maurice Léger. *Recherches sur les Mucorinées*. Poitiers, 1894.

TABLE DES ARTICLES

CONTENUS DANS LA QUATRIÈME SÉRIE DU « *BOTANISTE* »

1. P.-A. DANGEARD. — Observations sur le groupe des Bactéries vertes, p. 1-3, fig. 1.
 2. P.-A. DANGEARD ET MAURICE LÉGER. — I. Recherches sur la structure des Mucorinées. — II. La reproduction sexuelle des Mucorinées, p. 4-11, fig. 1-7.
 3. P.-A. DANGEARD. — La reproduction sexuelle de l'*Entyloma Glaucii*, p. 12-17, fig. 1-3.
 4. P.-A. DANGEARD. — Recherches sur la structure des Lichens, p. 18-20.
 5. P.-A. DANGEARD. — La reproduction sexuelle des Ascomycètes, p. 21-58, fig. 1-10.
 6. P.-A. DANGEARD. — La Truffe, recherches sur son développement, sa structure, sa reproduction sexuelle, p. 63-87, fig. 1-7.
 7. P.-A. DANGEARD. — La reproduction sexuelle chez les Basidiomycètes (Note préliminaire), p. 88-90.
 8. P.-A. DANGEARD. — Notice bibliographique sur nos publications en botanique, p. 91-117.
 9. P.-A. DANGEARD. — Mémoire sur la reproduction sexuelle des Basidiomycètes, p. 119-181, fig. 1-24.
 10. P.-A. DANGEARD. — Sur un nouveau cas remarquable de symbiose, p. 182-187, fig. 25.
 11. P.-A. DANGEARD. — A propos d'un travail du Dr C.-S. Minot sur la distinction des animaux et des végétaux, p. 188-189.
 12. P.-A. DANGEARD. — Notes sur le *Cladosporium* du Pommier, p. 190-195, fig. 1-6.
 13. P.-A. DANGEARD ET SAPPIN-THOUFFY. — Réponse à une note de MM. G. Poirault et Raciborski sur la karyokinèse chez les Urédinées, p. 196-198.
 14. P.-A. DANGEARD. — Mémoire sur les parasites du noyau et du protoplasma, p. 199-249, fig. 1-10.
 15. P.-A. DANGEARD. — Considérations sur les phénomènes de reproduction chez les Phycomycètes, p. 249-256.
-

GRAND CONCOURS

En 1901, un prix de 600 francs sera décerné à l'auteur du meilleur mémoire sur la botanique paru dans *Le Monde des Plantes*, du 1^{er} octobre 1895 au 1^{er} septembre 1900.

Les abonnés du *Monde des Plantes* seront les seuls juges du concours, et le prix sera attribué d'après leurs suffrages.

Les mémoires devront être aussi concis que possible, la Revue ne pouvant accorder à chacun d'eux qu'une place limitée. Ils seront exclusivement rédigés en français ou tout au moins *traduits* dans cette langue. Les auteurs sont priés de les adresser à la direction du *Monde des Plantes*, 104, rue de Flore, Le Mans, Sarthe (France), assez à temps pour qu'ils puissent paraître dans la période indiquée ci-dessus.

La seule condition requise pour concourir est d'être abonné au *Monde des Plantes* pendant la durée du concours.

H. LÉVEILLÉ,
Directeur du *Monde des Plantes*.

CARL ZEISS Optische Wertestaette IENA

MICROSCOPES ET APPAREILS PHOTOMICROGRAPHIQUES

De première qualité

depuis les plus simples jusqu'aux plus complets

CATALOGUE ILLUSTRÉ GRATIS ET FRANCO

Dépôt : à Paris, chez MM. Paul ROUSSEAU et C^{ie}, 17, rue Soufflot ; à Bruxelles, chez M. Rob. DROSTEN, 23, rue des Boiteux.

MICROGRAPHIE

E. COGIT

PARIS, 49, Boulevard Saint-Michel, 49, PARIS

Médaille d'agent à l'Exposition universelle de 1889

Spécialité de fournitures pour la Micrographie

Lames porte-objets et lamelles minces de toute espèce, cellules de verre, chambres humides, nécessaires à réactifs ; boîtes à préparations, instruments, verrerie, matières colorantes et réactifs pour les recherches de microscopie et de bactériologie préparés consciencieusement d'après les instructions des auteurs, préparations microscopiques variées et spécialement de Bacilles et de Botanique — Dépôt des Microscopes LUTZ et des Microtômes MEIER et JUNG, THOMA.

Charles MENDEL

Fournisseur des Ministères du Commerce, de la Marine et des Colonies

118 bis, RUE D'ASSAS. — PARIS

APPAREILS PHOTOGRAPHIQUES

PLAQUES, PAPIERS SENSIBLES, VERRERIE, PRODUITS CHIMIQUES

Chambres noires et Objectifs

SPÉCIALITÉ DE MATÉRIEL POUR AMATEURS ET EXCURSIONNISTES

PHOTO-REVUE, Journal des Amateurs de Photographie, 1 fr. par an

TRAITÉ PRATIQUE & ÉLÉMENTAIRE DE PHOTOGRAPHIE

par Charles MENDEL, un volume broché, 88 figures dans le texte, **UN FRANC**

ENVOI FRANCO DU CATALOGUE SUR DEMANDE

LE DIATOMISTE

Journal spécial s'occupant exclusivement des Diatomées et de tout ce qui s'y rattache, paraissant tous les trois mois en un fascicule, format in-4° de 12 à 16 pages de texte, avec 2 ou 3 planches même format.

Publié par J. **TEMPÈRE**

Avec la collaboration de MM. J. BRUN, P. BERGNON, P. T. CLEVE, E. DUTERTRE, E. GROVE
H. PERAGALLO

PRIX D'ABONNEMENT

Pour la France et tous les pays faisant partie de l'union postale,	15 »
En dehors de l'union postale,	20 »
Le numéro,	5 »

Pour tous les renseignements ou communications, s'adresser à J. TEMPÈRE, rue Saint-Antoine, 168, Paris.

New York Botanical Garden Library



3 5185 00259 3745

